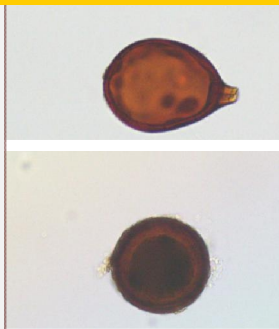


# ***BIOFERTILIZER FUNGI***

**Trichoderma & Mikoriza**

**SUTARMAN**



**UMSIDA PRESS**



# ***BIOFERTILIZER FUNGI*** **Trichoderma & Mikoriza**

**Oleh**  
**Sutarman**



Diterbitkan oleh  
**UMSIDA PRESS**  
Jl. Mojopahit 666 B Sidoarjo

ISBN: 9789793401478

Copyright©2016.

**Sutarman**  
All rights reserved

Hak cipta dilindungi undang-undang.  
Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini ke dalam bentuk apapun, secara elektronik, maupun mekanis, termasuk fotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainnya, tanpa izin tertulis dari penerbit.  
[Berdasarkan UU No. 19 Tahun 2000 tentang Hak Cipta Bab XII Ketentuan Pidana, Pasal 27, Ayat (1), (2), dan (6).]

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas tersusunnya buku dengan judul: “Biofertilizer Fungi: *Trichoderma* & Mikoriza” yang merupakan salah satu luaran penelitian yang didanai oleh Dirjen Dikti Kementerian Ristekdikti dalam skema Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT) Tahun 2016.

Buku ini disusun berdasarkan hasil kajian terkait *Trichoderma* dan Mikoriza oleh para pakar Internasional yang dituangkan dalam bentuk jurnal ilmiah di samping hasil pengolahan dan analisis terhadap data penelitian yang dilakukan oleh penulis..

Buku ini bisa dimanfaatkan sebagai sumber referensi bagi mahasiswa dan peneliti dalam mengembangkan bioteknologi pupuk hayati khususnya yang memanfaatkan fungi *Trichoderma* dan fungi mikoriza. Buku ini juga dapat dimanfaatkan oleh dosen pengampu mata kuliah Kesuburan dan Mikrobiologi Tanah, Pupuk dan Pemupukan, Bioteknologi Pertanian, Bioteknologi Pupuk Organik, dan mata kuliah lain yang relevan dalam rangka mengembangkan materi perkuliahan dan Rencana Pembelajaran.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada: Dirjen Dikti-Kemenristekdikti atas dukungan hibah penelitian PUPT, Rektor Universitas Muhammadiyah Sidoarjo (UMSIDA), Dekan, Ketua Program Studi Agroteknologi serta Kepala Laboratorium Agrokompleks Fakultas Pertanian UMSIDA atas dukungan moril dan fasilitas yang disediakan bagi kelancaran penelitian dan penyusunan buku ini.

Menyadari akan segala kekurangan, penulis sangat berharap kritik dan saran bagi penyempurnaan karya ilmiah ini di masa mendatang.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat. Terima kasih.

Sidoarjo, Oktober 2016

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
BAB 1. PERSPEKTIF PEMANFAATAN FUNGI TANAH	1
A. Definisi dan Lingkup	1
B. Fungi Agent Biofertilizer	4
C. Biofertilizer dan Biokontrol Aktif	4
D. Prospek Biofertilizer Berbasis Fungi	5
BAB 2. EKOLOFI FUNGI TANAH	8
A. Strategi Hidup Fungi Tanah	8
B. Bahan Oraganik dan Dekomposisinya	12
C. Evolusi Karbon dalam Dekomposisi Bahan Organik	13
D. Peran Fungi dalam Pembentukan Bahan Organik	16
BAB 3 FUNGI TRICHODERMA	19
A. Morfologi dan Identifikasi	19
B. Bioekologi Fungi	31
C. Fisiologi Fungi	34
D. Peran dan Pemanfaatan Fungi Trichoderma	38
BAB 4. FUNGI MIKORIZA	40
A. Biologi dan Pengelompokanya	40
B. Bioekologi Fungi Mikoriza	43
C. Fisiologi Fungi Mikoriza	46
D. Peran dan Pemanfaatan Fungi Mikoriza	52
BAB 5. METODE RISET DAN APLIKASI BIOFERTILIZER	54
A. Metode Penentuan Aktivitas Fungi Tanah	54
B. Metode Riset Pengembangan Biofertilizer	56
C. Formulasi Biofertilizer	62
DAFTAR PUSTAKA	67

## DAFTAR TABEL

3.1	Bobot umbi kentang dan karakteristk kultivar Sarpo Mira pada perlakuan inokulasi, pemberian cover crop dan kombinasi keduanya	33
3.2	Dampak formula <i>Trichoderma</i> sp. Tri-1, bahanpanen kimia pestisida, dan kombinasinya terhadap kejadian penyakit dan hasil panen kanola dalam percobaan lapangan dengan rotasi tanam kedele-kanola	39
4.1	Karakteristik tanah-tanaman-fungi mikoriza ericoid, ektomikoriza, dan endomikoriza	41
4.2	Enzim ekstra seluler yang diproduksi oleh fungi mikoriza erocoid, yang diperkirakan akan memberikan kemampuan fungi untuk mendegradasi komponen struktural bahan organik atau sisa tanaman sehingga berkontribusi untuk proses dekomposisi dan penyediaan nutrisi P	47
4.3	Karakteristik tanah dari lokasi penelitian di seluruh gradien elevasi yang diamati	49
5.1	Parameter tanaman, parameter mikroba, dan paremeter tanah untuk masing-masing jenis tanaman uji di rumah kaca dengan pemberian dan tanpa N pada umur 90 hari	69
5.2	Penentuan urutan-rutan nilai kinerja isolat <i>Trichoderma</i>	64

## DAFTAR GAMBAR

1.1	Kecenderungan pertanian selama 1940-2000	3
2.1	Model konseptual yang menunjukkan <i>cycle life</i> macroaggregate dan pembentukan microaggregates	17
3.1	Analisis spesifisitas primer dengan menggunakan elektroforesis gel	20
3.2	<i>Trichoderma</i> dari bagian <i>Trichoderma</i>	26
3.3	<i>Trichoderma</i> dari bagian <i>Pachybasium</i>	27
3.4	<i>Trichoderma</i> dari bagian <i>Pachybasium</i>	28
3.5	<i>Trichoderma</i> dari bagian <i>Pachybasium</i>	29
3.6	<i>Trichoderma</i> dari bagian <i>Longibrachiatum</i>	30
3.7	<i>Trichoderma harzianum</i> yang diisolasi dari tanah di bawah tegakan <i>Pinus merkusii</i>	31
3.8	Pertumbuhan kegiatan <i>Trichoderma</i> spp. secara tidak langsung	32
3.9	Struktur of harzianone, (9R,10R)-dihydro-harzianone dan harzianelactone	35
3.10	Pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas enzim yang mendegradasi dinding sel oleh <i>Trichoderma</i>	36
3.11	Struktur senyawa yang dihasilkan isolat <i>Trichoderma</i> KK19L1	36
3.12	Tiga aminolipopeptida dari trichoderin	37
3.13	Senyawa aminolipopeptida yang dihasilkan <i>Trichoderma</i>	37
4.1	Penampilan akar bibit cengkeh tanpa mikoriza dan terinfeksi fungi ektomikoriza	42
4.2	Spora fungi endomikoriza <i>Glomus coronatum</i> dan <i>Glomus sp.</i>	43
4.3	Hubungan antara distribusi bioma sepanjang gradien lingkungan di lintang utara bumi dan peran asosiasi mikoriza dalam pengambilan N dan P	45
4.4	Model keterlibatan mikoriza dalam pengambilan N dan P	48
4.5	Suhu harian Rerata suhu udara harian pada 20 cm dan curah hujan; rerata suhu tanah harian (°C) pada kedalaman 5 cm	51
5.1	Berbagai metode untuk menentukan aktivitas biomassa dan keragaman mikroba	55

## DAFTAR GAMBAR

5.2	Diagram sistem kultur outtrotof bagi inokulasi mikoriza secara in vitro pada plantet kentang	57
5.3	Akar kentang ( <i>Solanum tuberosum</i> cv. Rosa) yang dikolonisasi oleh <i>G. intraradices</i> dalam sistem kultur ototrofik	58
5.4	Skema diagram <i>core system</i> (diameter dalam 90 dan ketebalan 10 mm, tinggi 180 mm) dengan empat jendela (panjang 100 mm, lebar 35 mm) untuk uji tumbuh tanaman jeruk sebagai inang yang dikolonisasi oleh fungi mikoriza <i>Funneliformis mosseae</i>	59
5.5	Skema diagram pot silang dengan dua bahu samping	61

# BAB 1

## PERSPEKTIF PEMANFAATAN FUNGI TANAH

### A. Definisi dan Lingkup

Fungi tanah adalah salah satu komponen utama biota tanah dan sangat menentukan status kesuburan dan kesehatan tanah. Fungi tanah masuk di dalam kajian Mikrobiologi Tanah (*Soil Microbiology*) yaitu ilmu yang mempelajari mikroorganisme tanah dan berbagai proses di dalamnya.

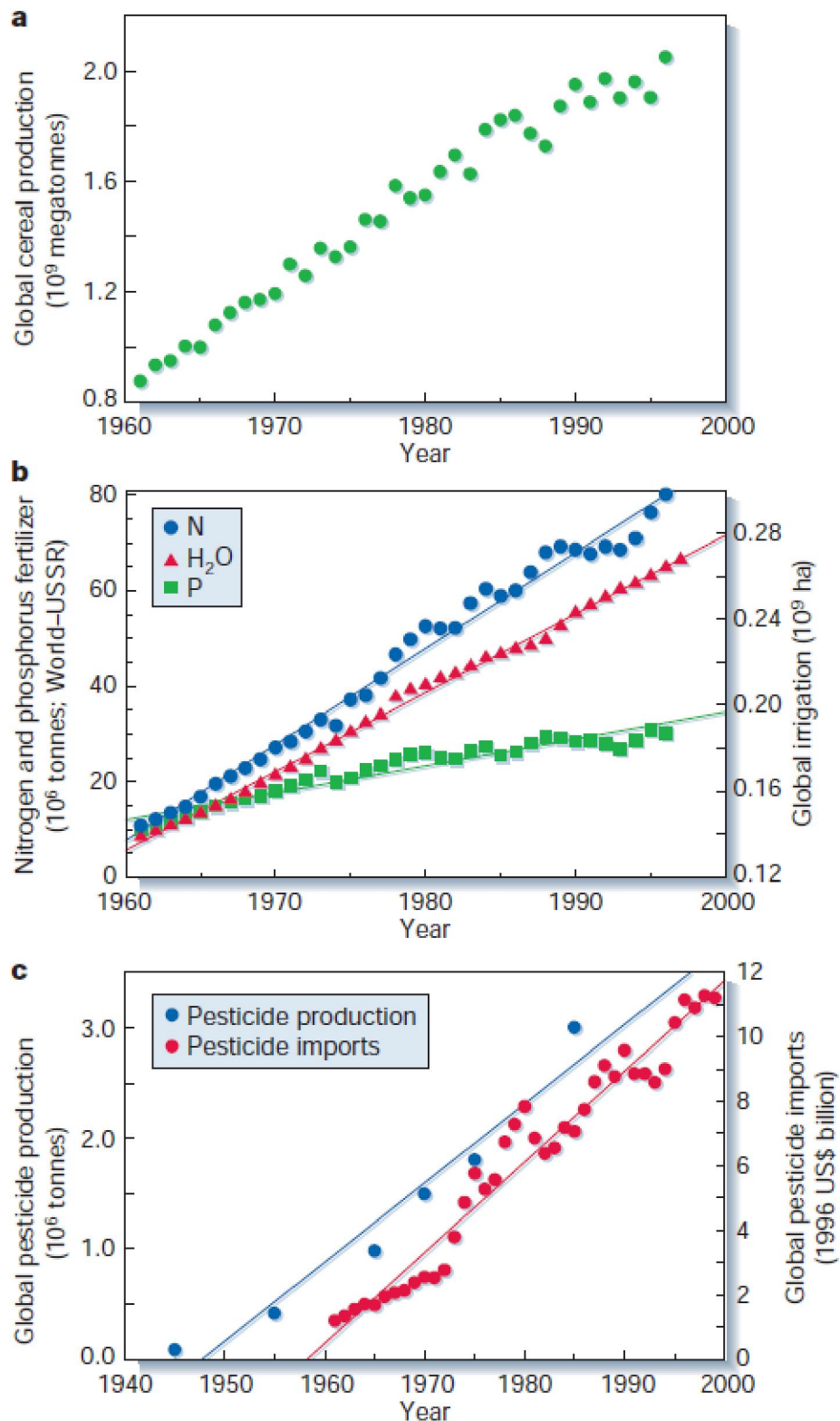
Banyak komponen biota tanah yang dipelajari dalam ilmu mikrobiologi tanah yaitu meliputi: bakteri, fungi, protozoa, serta mikroflora dan mikrofauna lainnya dengan propagul mandiri terbesar memiliki ukuran di sekitar  $10^{-4}$  m atau tidak lebih dari 100  $\mu\text{m}$  (milimikron). Dengan ukuran kurang dari 0,1 mm, maka sulit mata manusia dapat melihat bentuk dan keberadaan jasad mikro ini. Propagul mandiri dimaksud yaitu individu tunggal bisa dalam bentuk spora satu sel misalnya fungi *Aspergillus* atau bentuk spora bersel banyak misalnya fungi *Fusarium* sp. bersel 3-4; sementara itu untuk potongan hifa fungi (sebagai propagul mandiri) berukuran diameter sekitar 2-4  $\mu\text{m}$ . Penggunaan mikroskop sebagai alat bantu dapat memperbesar ukuran obyek yang tampak di lensa okuler hingga 1.000 kali; sementara itu bagi pemula untuk melihat jasad nematoda *Meloidogyne* betina cukup dengan menggunakan lup pada perbesaran 10 kali. Struktur propagul berukuran besar bisa dilihat dengan mata yaitu terlihat seperti potongan benang kain, namun kita tidak bisa melihat komponen penyusun sesungguhnya yang merupakan miselium yang menyatu membentuk kumpulan atau agregat. Fungi mikoriza *Scleroderma columnare* yang bersimbiosis dengan akar *Pinus merkusii* akan tampak sebagai benang-benang putih di perakaran pinus sesungguhnya merupakan untaian hifa eksternal yang tumbuh dari akar secara masif membentuk kumpulan miselium di dalam tanah. Pada pertumbuhan simbiosis yang sempurna pada tanaman pinus tingkat tiang hingga pohon sering kali menghasilkan struktur seperti *mushroom* dan disebut tubuh buah (mengandung spora) yang muncul di permukaan tanah sekitar perakaran pohon pinus.

Dari sekian banyak jenis mikrob tanah ada dua jenis yang paling banyak dikaji dan dikembangkan teknologi aplikasinya sebagai bioferilizer oleh para ilmuwan dan sudah mulai diterapkan oleh petani meskipun dalam skala terbatas. Kedua jenis mikroba



tersebut adalah fungi *Trichoderma* dan fungi mikoriza. Potensi spesies *Trichoderma* sebagai agent biokontrol penyakit tanaman pertama kali ditemukan pada awal 1930an (Howell, 2003), dan saat ini lebih banyak dikenal dan diaplikasikan oleh petani dibandingkan dengan pemanfaatannya sebagai biofertilizer. Fungi mikoriza adalah fungi yang mampu bersimbiosis mutualistik dengan tumbuhan (terutama pada lahan kering). Fungi mikoriza arbuskula berkontribusi penting dalam menjaga kualitas dan produktivitas tanaman sekaligus menjamin terpenuhinya daya dukung lahan bagi pertanian berkelanjutan (Gianinazzi *et al.*, 2010). Perannya membantu tanaman dalam penyerapan air dan nutrisi dari sumbernya yang seringkali tidak terjangkau bulu-bulu akar, membuatnya layak disebut sebagai agent biofertilizer.

Dua sarana penting yang digunakan dalam usaha tani yaitu pupuk dan pestisida tidak bisa dilepaskan dari keberhasilan produksi tanaman. Peningkatan produksi serelaia dari tahun 1960-2000 misalnya diikuti oleh peningkatan pemupukan N dan P serta peningkatan produksi dan import pestisida pada negara-negara penghasilnya (Gambar 1.1). Praktek pertanian dapat mengurangi kemampuan ekosistem untuk menyediakan barang dan jasa. Aplikasi pupuk dan pestisida yang tinggi (Gbr. 1b, c) dapat meningkatkan nutrisi dan racun dalam air tanah dan badan air, menimbulkan biaya kesehatan dan pemurnian air, dan menurunkan hasil perikanan dan produktivitas tempat wisata, menurunkan kualitas tanah berkontribusi eutrofikasi habitat perairan, mengubah komposisi dan mengurangi keanekaragaman hayati dalam sistem non-pertanian, juga menurunkan kemampuan ekosistem untuk menyediakan beberapa layanan kepada kehidupan atau menurunkan daya dukungnya bagi kehidupan (Tilman *et al.*, 2002).



Gambar 1.1 Kecenderungan pertanian selama 1940-2000. a, Total produksi global sereal; b, total penggunaan pupuk nitrogen and phosphorus fertrigasi ilizer (tidak termasuk Uni Soviet) and lahan beririgasi secara global; dan c, total penggunaan dan impor pestisida secara global (Tilman *et al.*, 2002)

## B. Fungi Agent *Biofertilizer*

Fungi *Trichoderma* dan mikoriza sudah dipahami sebagai kelompok utama fungi yang berperan besar di dalam upaya manusia untuk memperbaiki atau memulihkan kesuburan tanah dan daya dukung lahan bagi kegiatan budidaya. Meskipun sejak tahun 1990-an pemanfaatan fungi *Trichoderma* dan fungi Mikoriza sebagai biofertilizer sudah dimulai, namun bioteknologi berbasis pemanfaatan kedua fungi ini masih terus berkembang secara progresif. Di luar aspek rekayasa genetika dalam pemanfaatan kedua fungi ini, kiranya berbagai riset yang bersifat menginventarisir, menyeleksi, dan menguji perannya sebagai biofertilizer serta penciptaan formulasi bagi kepentingan aplikasi yang kompatibel secara bioekologi dan pengembangan teknologi konservasinya masih merupakan ladang yang sangat luas untuk digarap baik oleh para peneliti (dosen dan mahasiswa) maupun para praktisi tidak saja di Indonesia tapi juga di seluruh dunia.

Salah satu kata kunci dalam pemanfaatan fungi *Trichoderma* dan Mikoriza adalah *biofertilizer* yang didefinisikan sebagai pupuk hayati. Bagi para ilmuwan bidang proteksi tanaman, berbagai riset yang dilakukan terhadap kemanfaatan kedua fungi ini adalah untuk mendapatkan isolat *Trichoderma* sebagai agen *biokontrol aktif* yang efektif dan mendapatkan isolat fungi mikoriza yang mampu meningkatkan ketahanan tanaman dan melindungi tanaman, atau sebagai agen *biokontrol pasif*, terhadap gangguan patogen perakaran.

Kedua macam fungi ini sebagai agen *biokontrol pasif* terhadap patogen sesungguhnya memiliki definisi peran yang tidak jauh berbeda dengan sebagai agen biofertilizer (pupuk hayati). Namun demikian dalam buku ini pembahasan lebih dititik beratkan pada peran fungi sebagai agent pupuk hayati dan peran fungi agen biokontrol namun yang bersifat pasif dalam arti efek aplikasi fungi ini menciptakan kondisi yang sehat bagi tanah dan tanaman.

## C. Biofertilizer dan Biokontrol Pasif

Berbagai jenis *Trichoderma* sering dijumpai sebagai fungi endofit yang keberadaannya cenderung sebagai “penjaga” luka atau infeksi jaringan yang diakibatkan oleh berbagai penyebab baik biotik maupun abiotik. Pada bagian luar jaringan luka akan dihasilkan biomassa sel mati yang akan menjadi substrat bagi *Trichoderma*. Eksistensi

fungi ini pada jaringan luka dapat menghambat patogen seperti ditunjukkan pada hasil penelitian Nurudin dan Sutarman (2014) *Trichoderma* yang diposisikan sebagai fungi endofit melalui inokulasi mendahului dan bersamaan dengan *Phytophthora palmivora* pada daun bibit kako yang sudah dilukai ternyata mampu menghambat perkembangan infeksi patogen. Pada keadaan demikian *Trichoderma* berperan sebagai agen biokontrol pasif. Hasil penelitian Achmad et al. (1999) juga menunjukkan inokulasi mikoriza mampu meningkatkan ketahanan tanaman yang ditunjukkan dengan intensitas serangan damping off yang lebih rendah dibandingkan dengan tanpa mikoriza. Sejauh ini fungi mikoriza tidak pernah dianggap sebagai agen biokontrol atau agen biopsetisida, tetapi diyakini dapat meningkatkan pertumbuhan dan kesehatan tanaman. Kasus yang sering dijumpai pada aplikasi fungi mikoriza ini menunjukkan bahwa fungi mikoriza berperan sebagai agen biokontrol pasif dan layak sebagai bioferilizer.

#### **D. Prospek Bioferilizer Berbasis Fungi**

Laporan tentang menurunnya kualitas lahan pertanian di Indonesia dibuktikan dengan makin tergantungnya lahan pada input bahan kimia yang mengancam daya dukung lingkungan bagi kelestarian produksi tanaman dan produktivitas lahan. Menurut Suriadikarta dan Simanungkalit (2006) sebagian besar lahan pertanian telah mengalami degradasi tingkat kesuburannya yang ditandai dengan kandungan C organik rata-rata di dalam tanah yang relative sangat rendah yaitu kurang dari 2 %. Penyebabnya adalah pencemaran oleh bahan kimia pupuk dan pestisida yang digunakan secara masif dalam rangka untuk memenuhi target produksi dan mencegah kegagalan panen akibat gangguan hama dan patogen serta gulma. Ketergantungan pada pestisida dan pupuk kimia mendorong peningkatan laju degradasi dari waktu ke waktu dengan konsekwensi terancamnya eksistensi mikroorganisme tanah sebagai agen pendukung kesuburan tanah dan kesehatan tanaman.

Berbagai penelitian di perguruan tinggi dan lembaga penelitian yang fokus pada kesuburan tanah banyak diarahkan pada inventarisasi, isolasi, pengujian efektivitas dalam meningkatkan dan memulihkan kesuburan tanah, serta perbanyakan dan produksi masaal. Banyak hasil penelitian yang menunjukkan trend positif membantu memulihkan kesuburan tanah, namun banyak pula yang efektivitasnya diragukan ketika diaplikasikan ke lapangan. Balum bisa dipastikan sejauhmana pestisida dan pupuk kimia mempengaruhi potensi

keragaan fungi *soil borne* dalam merehabilitasi kesuburan tanah. Namun berbagai upaya harus terus ditumbuh-kembangkan termasuk mengembangkan pencarian sumber plasmanutraf mikroba tanah efektif misalnya dengan menginventarisasi dan menguji isolat-solat mikroba tanah termasuk dari kelompok *Trichoderma* dan Mikoriza yang berasal dari lahan yang bukan diusahakan secara intensif bagi tanaman pertanian misalnya lahan hutan tanaman dan/atau lahan konservasi.

Keberhasilan pemulihan kesuburan tanah dan lahan pertanian berarti mengandung indikasi meningkatnya aktivitas mikroba tanah yang menguntungkan; hal ini pastilah sejalan dan/atau berbanding lurus dengan peningkatan rata-rata hasil dekomposisi bahan organik yang merupakan substrat bagi berbagai biota tanah, dengan asumsi input bahan organik ke dalam tanah menjamin kebutuhan rata-rata mikroba tanah. Peningkatan kesuburan tanah secara biologi sudah tentu akan meningkatkan kesuburan secara kimia dan fisika tanah. Aktivitas mikroba yang optimal akan saling terkait dengan peningkatan total hasil dekomposisi bahan organik dan pada gilirannya akan meningkatkan status nutrisi di dalam tanah baik unsur-unsur makro, mikroa, dan *trace* element.

Level optimal kesuburan tanah yang pulih atau meningkat dari kondisi yang miskin akan menjamin kualitas lahan secara keseluruhan, mengingat tiap tanaman dan/atau tumbuhan yang hidup di lahan yang diusahakan akan memberikan kontribusi bagi jaminan keberlangsungan hidup yang optimal bagi biota tanah. Dalam kondisi ini siklus hara yang baik akan terjaga dan rantai makanan dalam ekosistem di lahan tersebut akan terpelihara dengan baik pula. Kondisi ini sudah tentu akan memberikan jaminan bagi kelestarian daya dukung lahan bagi upaya membangun ketahanan pangan masyarakat.

Berbagai upaya pemerintah dan segenap pemangku kepentingan yang bertanggung-jawab terhadap penciptaan swasembada pangan di Indonesia yang selama ini senantiasa mengandalkan pembangunan infrastruktur, seperti penggairan/irigasi, pencetakan lahan pertanian, pembuatan waduk dan sarana penyimpanan air lainnya, penyediaan benih dan sarana produksi lainnya, sudah saatnya lebih meningkatkan perhatiannya pada eksplorasi kekayaan hayati lahan dan pemanfaatan potensi kerja biota tanah khususnya mikroba tanah. Semua infratraktur yang dibangun dan diadakan tidak ada manfaatnya ketika pembangunan kesuburan tanah secara biologi terabaikan. Karena hal itu hanya akan melanggengkan siklus yang seperti “lingkaran setan” dengan senantiasa bertumpu pada



introduksi bahan instant bagi menjaga produktivitas pertanian. Jika hal ini tetap terjadi maka sampai kapanpun tanah pertanian akan menjadi bagaian dari lahan marginal.

Marjinalisasi lahan sebagai akibat *mismanagement* dalam penerapan agroteknologi sudah tentu akan memarjinalkan masyarakat yang tinggal di desa pertanian dan/atau di desa pinggiran hutan yang sebagian besar sesungguhnya sangat tergantung pada kesuburan tanah. Kemiskinan terstruktur yang terjadi dalam masyarakat pedesaan ini tentunya akan semakin menggeser kemampuan kita dalam mencapai peningkatan kesejahteraan, maka jika berlangsung lama bukan saja akan menimbulkan krisis pangan dan krisis ekonomi, tapi juga berakibat terjadinya krisis sosial dan krisis kepercayaan kepada pemerintah dan kaum elit termasuk para ilmuwan di perguruan tinggi.

Untuk mencegah sumber ancaman ketahanan pangan yang dapat dipersempit mencegah degradasi lahan, maka pengembangan riset dan implementasi teknologi biofertilizer mutlak dilakukan. Penelitian dan pengembangan potensi agent pupuk hayati bagi beberapa mikroba tanah, terutama dan konteks ini adalah fungi *Trichoderma* dan fungi Mikoriza sangat mulak diperlukan.

## BAB 2

### EKOLOGI FUNGI TANAH

Ekologi fungi tanah adalah kajian tentang kehidupan fungi di dalam tanah yang sangat dipengaruhi oleh lingkungan baik biotik maupun abiotik. Dengan lingkungan biotik fungi dapat berinteraksi dengan berbagai kelompok makhluk hidup baik yang bersifat heterotrof maupun autotrof. Dengan tumbuhan fungi berinteraksi secara erat misalnya pada simbiosis tanaman dengan fungi mikoriza atau berinteraksi secara tidak erat misalnya *Trichoderma* dengan tumbuhan dan mikroorganisme lainnya. Sesama mikroba baik fungi mikoriza maupun *Trichoderma* yang bisa dianggap sebagai agen biofertilizer dalam perspektif keagronomian bisa saling mempengaruhi dalam konteks membentuk simbiosis di mana interaksi keduanya akan menghasilkan kondisi *condusive soil* yang memberi keuntungan bagi tanaman yang dibudidayakan, mikroba lain yang menguntungkan, di samping bagi kedua fungi ini secara tidak langsung. Dengan lingkungan abiotik, eksistensi *Trichoderma* dan fungi mikoriza sering dianggap berhubungan dengan dekomposisi bahan organik tanah yang pada akhirnya memberikan peningkatan kualitas lahan.

#### A. Strategi Hidup Fungi Tanah

Pada dasarnya fungi mengembangkan strategi hidupnya di dalam tanah dalam rangka melangsungkan kehidupannya di antara berbagai bentuk interaksinya baik dengan lingkungan biotik maupun abiotik yang di satu pihak dapat menekan kehidupannya tapi di lain pihak dapat mendukung kehidupannya.

Dinamika lingkungan dapat menimbulkan *stress* bagi fungi misalnya terjadi perubahan lingkungan abiotik yang cenderung membatasi ketersediaan sumberdaya bagi keperluan produksi biomasnya. Berbagai kondisi seperti perubahan suhu tanah, pH, dan ketersediaan oksigen dan air yang berada di bawah daya dukung lingkungan yang optimal bagi kehidupan fungi dapat menimbulkan *stress* bagi fungi. Kondisi ini dapat terjadi misalnya pada tanah-tanah yang terpapar lumpur perut bumi (kasus luapan lumpur Sidoarjo), debu dan lahar panas letusan gunung berapi, hujan asam, kebakaran hutan dan lahan, penggerusan top soil akibat erosi lahan, dan limbah pabrik (baik yang sengaja dibuang atau dianggap sebagai pupuk). Dalam kondisi ini fungi mendapatkan gangguan yang bersifat merusak. Namun di lain pihak fungi juga bisa

mendapatkan gangguan dalam bentuk pengkayaan sumberdaya secara tiba-tiba misalnya adanya penebangan atau pengambilan kayu di hutan namun meninggalkan biomassa berjumlah besar dalam bentuk tajuk-dedaunan dan ranting-cabang pohon. Peningkatan biomassa di permukaan tanah itu bukan saja meningkatkan bahan baku nutrisi bagi satu jenis fungi tertentu, tapi juga bagi berbagai mikroba lain yang mungkin akan mengganggu, mengingat kemampuan berbagai mikroba menghasilkan senyawa ekstraselular yang dapat mempengaruhi aktivitas mikroba lainnya.

Terkait bagaimana fungi menghadapi berbagai kondisi lingkungan biotik dan abiotik yang dapat menghasilkan cekaman dan menimbulkan stress, MacArthur dan Wilson (1967 dalam Dix dan Webster, 1995) mengenalkan istilah strategi seleksi K (*K-selection*) dan strategi seleksi r (*r-selection*); pada strategi seleksi K, fungi tumbuh pada populasi sesuai daya dukung lingkungannya saja, sedangkan pada seleksi r, fungi tumbuh dengan peningkatan populasi atau biomasnya sesuai laju intrinsiknya. Pada strategi seleksi r, yaitu ketika sumberdaya melimpah, maka fungi akan meningkatkan laju pertumbuhan biomassa hingga mencapai laju intrinsiknya. Pada kondisi yang berbeda misalnya bahan organik di tanah kurang tersedia, maka fungi mengembangkan strategi seleksi K yaitu tumbuh hanya sebatas daya dukung bahan organik yang tersedia; pada kondisi ini bisa jadi fungi lebih banyak menghasilkan kladospora dan pertumbuhan hifa terhenti. Secara sederhana misalnya dapat kita lihat pada pertumbuhan *Trichoderma* yang ditumbuhkan di media PDA. Mulai hari kedua tampak pertumbuhan hifa berwarna putih dengan laju yang tinggi, namun pada hari ke-6 pertumbuhan melambat di mana miselium sudah hampir mengisi seluruh permukaan media di cawan petri. Ketika laju pertumbuhan melewati maksimal, maka tampak koloni mulai berwarna hijau yang menandakan spora dihasilkan. Pada kasus di mana media tumbuh diberi gangguan misalnya pH yang di luar optimal, maka fungi bisa mempercepat periode sporulasi. Gambaran tersebut dapat dijadikan pendekatan dalam memahami bagaimana fungi mengembangkan strategi dalam menghadapi dinamika lingkungan.

Berdasarkan strategi hidup sebagai respons fungi dalam menghadapi proses kehidupannya bersama-sama dengan tanaman dan lingkungan biotik lainnya serta lingkungan abiotik, Dix dan Webster (1995), mengelompokkan fungi dan/atau strategi hidupnya sebagai berikut:

- (i) Fungi seleksi-R (fungi *ruderal*): strategi yang dikembangkan oleh fungi ini adalah pertumbuhan miselium yang cepat agar mampu dengan cepat mengkolonisasi sumber makanan baru, atau mempercepat reproduksi aseksual; contoh jenis fungi tanah yang mengembangkannya strategi seleksi R adalah genus *Mucor* dan *Rhizopus*;
- (ii) Fungi seleksi-S (fungi toleran stress): strategi yang dikembangkan oleh fungi untuk mengatasi atau beradaptasi terhadap cekaman/*stress* yang disebabkan oleh adanya satu faktor atau kombinasi faktor-faktor seperti: keterbatasan air, keterbatasan nutrisi, adanya kondisi anaerob, dan suhu tinggi di tanah. *Trichoderma harzianum* misalnya membentuk lapisan tipis pada hifa (*gossamer*) yang kemudian menjadi klamidospora;
- (iii) Fungi seleksi-C (fungi kombatif): fungi memiliki/mengembangkan kemampuan untuk mengambil sumberdaya sekunder dan untuk melindungi domain pengambilan sumberdaya misalnya dengan mengambil-alih domain pengambilan sumberdaya mikroba lain. Berbagai fungi pelapuk kayu dari kelas Basidiomycetes memiliki strategi seleksi C. Tingkatan penerapan seleksi C ini juga bervariasi ada yang sangat kombatif (*most combative*) seperti *Hypholoma fasciculatus*, *Lenzites betulina*, dan *Sistotrema brinkmannii* hingga yang kadang-kadang bersifat kombatif (*least combative*) seperti: *Armillaria bulbosa*, *Lopadostoma turgidum*, dan *Xylaria hypoxylon* sehingga domain pengambilan sumberdaya/nutrisi bisa diambil-alih oleh spesies lain;
- (iv) Strategi sekunder: satu jenis fungi dapat mengembangkan salah satu atau lebih dari ketiga strategi tersebut (Seleksi-R, -S, dan -C) sesuai dengan dinamika perubahan lingkungan. *Trichoderma* misalnya di dalam tanah atau pada kayu di atas tanah akan tumbuh cepat dengan menghasilkan spora dan enzim selulosa untuk mempercepat proses dekomposisi (seleksi R). Pada saat yang sama fungi ini juga mengembangkan strategi seleksi C atau bersifat sebagai fungi kombatif mengambil alih domain pengambilan sumberdaya mikroba lain. *T. harzianum* mengembangkan strategi seleksi-S dengan mampu hidup atau toleran terhadap kondisi lingkungan yang sangat miskin nutrisi. *T. viridae* dan *T. polysporum* pada daun cemara dengan suhu tinggi diambil-alih

oleh *T. hamatum* dan *T. koningii*; hal sebaliknya terjadi ketika suhu rendah yaitu . *T. viridae* dan *T. polysporum* mengambil alih penguasaan sumberdaya.

Implementasi strategi penentuan seleksi dalam kehidupan fungi agent biofertilizer sering diuji bagi berbagai kepentingan pemanfaatannya. Berbagai riset dilakukan untuk mengetahui sejauh mana tipe seleksi fungi dapat dimanipulasi untuk kepentingan agronomis dan pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi pemanfaatan mikroba menguntungkan termasuk terkait fungi *Trichoderma* dan fungi mikoriza. Dari kajian tentang strategi fungi dalam mengembangkan tipe seleksi-nya, maka lahir berbagai penelitian dengan tema ekologi fungi. Bagaimana fungi merespons pengaruh lingkungan dalam bentuk perubahan fisik dan kimia tanah serta pertumbuhan dan produktivitas vegetasi yang ditumbuhkan di atasnya akan memberikan informasi penting bagi peneliti dan praktisi budidaya tanaman.

Berbagai contoh hasil riset implementatif terkait respons fungi terhadap lingkungannya telah dipublikasikan oleh para peneliti dan telah banyak memberikan inspirasi bagi penelitian lebih lanjut dan implementasinya. Aktivitas fungi mikoriza arbuskula misalnya mempengaruhi keanekaragaman tanaman dan produktivitas ekosistem dengan memainkan peran kunci dalam padang rumput yaitu dengan meningkatkan nutrisi tanaman dan struktur tanah yang sudah tentu akan mempengaruhi komunitas tumbuhan (van der Heijden *et al.*, 2006). Penggunaan mikroba agen biokontrol bukan saja mengendalikan patogen dan mencegah infeksi akar oleh patogen tetapi dapat meningkatkan resistensi dan pertumbuhan tanaman tanpa mengganggu keanekaragaman hayati mikroflora di rizosfer (Gerbore *et al.*, 2014). Respons fungi *Trichoderma* terhadap variasi pengaruh lingkungan biotik berkaitan dengan kelimpahan populasinya. Kelimpahan populasi mikroba tanah akan mempengaruhi kemampuannya dalam melangsungkan perannya di rhizosfer. Makin tinggi kepadatan populasi *Trichoderma* sampai pada batas kepadatan populasi rata-rata tertentu akan semakin efektif mengendalikan *Meloidogyne* spp. (Jindapunnapat *et al.*, 2013; Sahebani and Hadavi, 2008).. Kepadatan populasi suatu spesies akan menunjukkan kinerja yang mungkin tidak sama dengan spesies yang lain meski dari genus yang sama. Hasil penelitian Al-Hazmi dan TariqJaveed (2016) yang menggunakan empat kepadatan ( $10^4$ ,  $10^6$ ,  $10^8$  dan  $10^{10}$  spora/g tanah) inokulum dua spesies *Trichoderma* menunjukkan peningkatan populasi makin meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat sejalan dengan kemampuan menekan nematode *Meloidogyne* dan



menurunkan keparahan puru akar; sementara itu *T. harzianum* memberikan efek yang lebih baik dibandingkan dengan *T. viride* pada kepadatan inokulum tertinggi ( $10^{10}$  spora/g tanah).

## **B. Bahan Organik dan Dekomposisinya**

Kehidupan mikroba tanah senantiasa berasosiasi dengan status bahan organik tanah. Pada kebanyakan lahan pertanian yang pada umumnya memiliki bahan organik dengan kadar yang rendah, maka dapat dipastikan keragaman jenis dan kelimpahan biomassa mikroba tanah juga rendah; bahkan banyak jenis-jenis fungi yang menguntungkan tereliminasi dari agroekosistem yang rusak.

Secara umum rata-rata 5 % dari bobot tanah adalah bahan organik yang berperan penting dalam terciptanya kesuburan tanah. Bahan organik bukan saja sebagai komponen tanah yang menentukan pertumbuhan tanaman, tetapi bahan organik merupakan substrat bagi pertumbuhan berbagai jenis biota tanah terutama mikroba tanah yang bersifat heterotrof. Bahan organik berasal dari jasad makhluk hidup yang mati bisa berasal dari tumbuhan dan/atau seluruh biota tanah yang kemudian mengalami proses pembusukan (dekomposisi) mulai dari humifikasi hingga mineralisasi yang dihasilkan berbagai mineral. Akhir proses dekomposisi bahan organik adalah aneka nutrisi yang diperlukan bagi tumbuhan. Secara biokimia, biomassa jasad tumbuhan terdiri atas: air 25 %, gula dan pati 1-5%, hemiselulosa 10-30%, selulosa 20-50%, 10-30% lignin, 10% protein, lemak dan lain-lain 1-8%.

Dekomposisi jasad makhluk hidup yang mati dan/atau bahan organik adalah bagian dari siklus nutrisi yang dimulai dari proses pembusukan hingga proses mineralisasi untuk kemudian nutrisi yang dihasilkan diserap oleh tumbuhan menjadi penyusun biomassa tumbuhan hingga mengalami kematian; selanjutnya siklus dekomposisi berlangsung kembali. Proses dekomposisi bahan organik atau biomassa jasad makhluk hidup yang mati merupakan proses yang berulang-ulang.

Kecepatan proses dan hasil akhir dekomposisi bahan organik sangat ditentukan oleh jenis jaringan sisa tumbuhan dan jenis jasad hidup lainnya serta jenis mikroba pendegradasi bahan organik. Banyak jenis fungi tanah yang berperan penting dalam pendegradasian bahan organik sehingga oleh karenanya aktivitas mikroba ini akan menghasilkan peran sebagai pemberi nutrisi tanaman, misalnya berbagai jenis *Trichoderma*.

Sementara itu ada jenis fungi lain yang berperan memfasilitasi pengalokasian air dan nutrisi dari suatu lokasi di dalam tanah yang tidak dapat dijangkau oleh akar tanaman, misalnya fungi mikoriza.

Kombinasi fungi tertentu yang berperan sebagai pendekomposisi bahan organik dengan jenis bahan organiknya akan sangat menentukan kecepatan proses dekomposisi bahan organik itu sendiri maupun jenis bahan organik lainnya secara bersamaan. Kombinasi *Trichoderma virens* dan kotoran ayam sebagai sumber nitrogen organik memberikan hasil yang positif dalam mendekomposisi tandan kosong sawit dan limbah pabrik minyak sawit menjadi kompos (DayanaAmira *et al.*, 2012),

*Trichoderma* juga berkemampuan mendegradasi substrat yang sesungguhnya merupakan sel hidup fungi. Dua isolat *T. viridae* dan satu isolat *T. pseudokoningii* menunjukkan kemampuannya mendegradasi sklerotia fungi *S. Cepivorum* hingga mencapai 80% pada tanah liat berdebu (Clarkson *et al.*, 2004). Sklerotia adalah struktur propagul fungi dari genus *Sclerotium* yang merupakan kumpulan atau pembauran cabang-cabang hifa berstruktur kasar dengan bentuk dan ukuran yang bervariasi bahkan ada yang panjangnya 1 cm. Menurut Dix dan Webster (1995) sklerotia yang merupakan struktur untuk bertahan dalam waktu yang lama di lingkungannya, berpigmen, dan pada beberapa spesies menghasilkan antibiotik serta beberapa enzim seperti kitinase dan glukonase.

### C. Evolusi Karbon dalam Dekomposisi Bahan Organik

Jenis tanaman dan kesuburan tanah mengendalikan *efek rizosfir* pada bahan organik dan dekomposisi tanah. Dalam penelitian Cheng *et al.*, (2003) yang menggunakan tanaman kedelai [*Glycine max* (L.) Merr.] dan gandum musim semi (*Triticum aestivum* L.) diselidiki bagaimana jenis tanaman dan tingkat kesuburan tanah mengendalikan proses dekomposisi bahan organik tanah dengan menggunakan  $^{13}\text{C}$  pelacak. Hasil penelitiannya ternyata menunjukkan bahwa *rhizosfer priming* atau kondisi awal rhizosfer pada tanah yang ditanami secara substansial dapat meningkatkan dekomposisi dibandingkan dengan kontrol (tanpa tanaman). Dari percobaannya pula diketahui bahwa efek *rhizosfer priming* tanaman kedelai secara signifikan lebih tinggi daripada tanaman gandum, efek priming dari rizosfer gandum mencapai 287% di atas kontrol tanpa tanaman pada tahap berbunga dan menurun secara signifikan sesudahnya. *Efek priming* dari rizosfer kedelai mencapai puncaknya pada 383% di atas kontrol tanpa tanaman selama tahap

vegetatif akhir dan tetap pada tingkat tinggi dan seterusnya. Pemupukan NPK tidak secara signifikan mengubah *efek priming* rizosfer atau tidak secara signifikan meningkatkan laju dekomposisi bahan organik.

Proses dekomposisi bahan organik akan melibatkan aktivitas metabolisme dekomposer di dalam tanah dan akan menghasilkan CO<sub>2</sub> sehingga akan menyumbangkan suatu dinamika perubahan laju respirasi dan aktivitas mikroba tanah. Efflux CO<sub>2</sub> dari tanah merupakan hasil respirasi akar yang sebenarnya (respirasi oleh autotrof) dan respirasi rhizomikrobial (respirasi oleh heterotrof) sangat penting dalam: (i) menentukan karbon (C) dan keseimbangan energi tanaman dan tanah, (ii) mengukur sumber C untuk mikroorganisme rhizosfer dan estimasi C yang berkontribusi terhadap *turn over* bahan organik tanah (SOM), serta (iii) dalam menghubungkan produksi bersih ekosistem (NEP) dan pertukaran ekosistem bersih (NEE) (Kuzyakov dan Larionova, 2005). Hasil pengukuran dari berbagai tanaman (gandum, ryegrass, barley, gandum, jagung, rumput fescue, padang rumput rumput), diperoleh respirasi oleh autotrof rata-rata sebesar  $48 \pm 5\%$  dan respirasi rhizomikrobial (respirasi oleh heterotrof) rata-rata sebesar  $52 \pm 5\%$  efflux CO<sub>2</sub> akar (Kuzyakov dan Larionova, 2005).

Pada percobaan yang dilakukan di lahan hutan cemara di Norwegia, diperoleh hasil pengukuran kontribusi fungi ektomikoriza untuk respirasi tanah adalah terbesar pada media pasir kwarsa murni yaitu mencapai kumulatif 1,2 dan 2,2 Mg C ha<sup>-1</sup> per 6 bulan di tahun 2010 dan 2011; sementara itu respirasi akar yang baru tumbuh dengan baik di media pasir murni kuarsa sebesar 1,0 Mg C ha<sup>-1</sup> pada tahun 2010 (Neumann dan Matzner, 2014). Fakta tersebut menunjukkan bahwa respirasi fungi ektomikoriza relatif lebih besar dari respirasi akar halus.

Pada hutan tropis basah *semi-evergreen*, respirasi karbon miselia fungi mikoriza arbuskula mencapai 1,4 ton ha<sup>-1</sup> tahun<sup>-1</sup> yang menyumbang  $14 \pm 6\%$  dari total respirasi tanah dan  $26 \pm 12\%$  dari respirasi akar; karena sangat tergantung pada pasokan baru dari karbon dari akar sebagai fungsi fiksasi atas tanah, maka respirasi miselium fungi mikoriza arbuskula merupakan jalur penting fluks karbon dari pohon-pohon hutan tropis ke atmosfer (Nottingham et al., 2010).

Banyak tulisan menunjukkan baik langsung maupun tidak langsung peran fungi mikoriza sebagai regulator dari dinamika C tanah; oleh karenanya fungi mikoriza seperti

memiliki peran sebagai dekomposer setidaknya mengambil bagian dalam proses dekomposisi bahan organik.

Terkait karakter fungi mikoriza yang tampak “samar” sebagai dekomposer, Talbot et al. (2008) menyampaikan pandangannya yaitu:

- (i) Dalam pandangan konvensional siklus karbon tanah (C), fungi mikoriza terutama dianggap vektor input C ke tanah; namun di lain pihak ada banyak bukti bahwa fungi mikoriza juga dapat berkontribusi dalam pengurangan langsung C tanah dengan bertindak sebagai pengurai, yaitu dengan memproduksi enzim litik ekstraseluler dan metabolisme C tanah.
- (ii) Sebagian besar bukti bahwa fungi mikoriza dapat bertindak sebagai pengurai berasal dari penelitian terhadap *ericoid* dan fungi ektomikoriza, meskipun ada bukti eksperimental yang menunjukkan peningkatan peran fungi mikoriza arbuskula di dalam dekomposisi C tanah. Dekomposisi oleh fungi mikoriza menunjukkan adanya keseimbangan C tanah yang tunduk pada faktor ekologi yang mempengaruhi tanaman dan simbiosis fungi;
- (iii) Mengusulkan hipotesis tiga mekanisme yang berkaitan dengan metabolisme C tanah oleh fungi mikoriza, yaitu: (1) hipotesis pertama adalah bahwa fungi mikoriza metabolisme tanah C sebagai sumber C alternatif ketika pasokan fotosintat dari tanaman inang rendah, (2) hipotesis kedua adalah bahwa fungi mikoriza menguraikan terurai C tanah sebagai konsekuensi dari penambahan nutrisi organik tanah, (3) hipotesis ketiga (hipotesis 'Priming Effects') adalah bahwa fungi mikoriza menguraikan C tanah ketika alokasi fotosintat tanaman ke akar bermikoriza tinggi, sehingga pertumbuhan tanaman dan aktivitas fungi mikoriza menjadi prima.
- (iv) Pengujian hipotesis secara empiris memperjelas peran fungi mikoriza dalam menjaga keseimbangan C tanah.

Mikroorganisme mengandalkan enzim ekstraseluler untuk memecah polimer organik tidak larut seperti selulosa, protein, dan kitin menjadi unit-unit yang lebih kecil untuk penyerapan. Geisseler dan Horwath (2009) telah menyelidiki faktor yang mempengaruhi hubungan antara aktivitas enzim ekstraseluler dan turn over C dan N tanah dan memberikan kesimpulan:

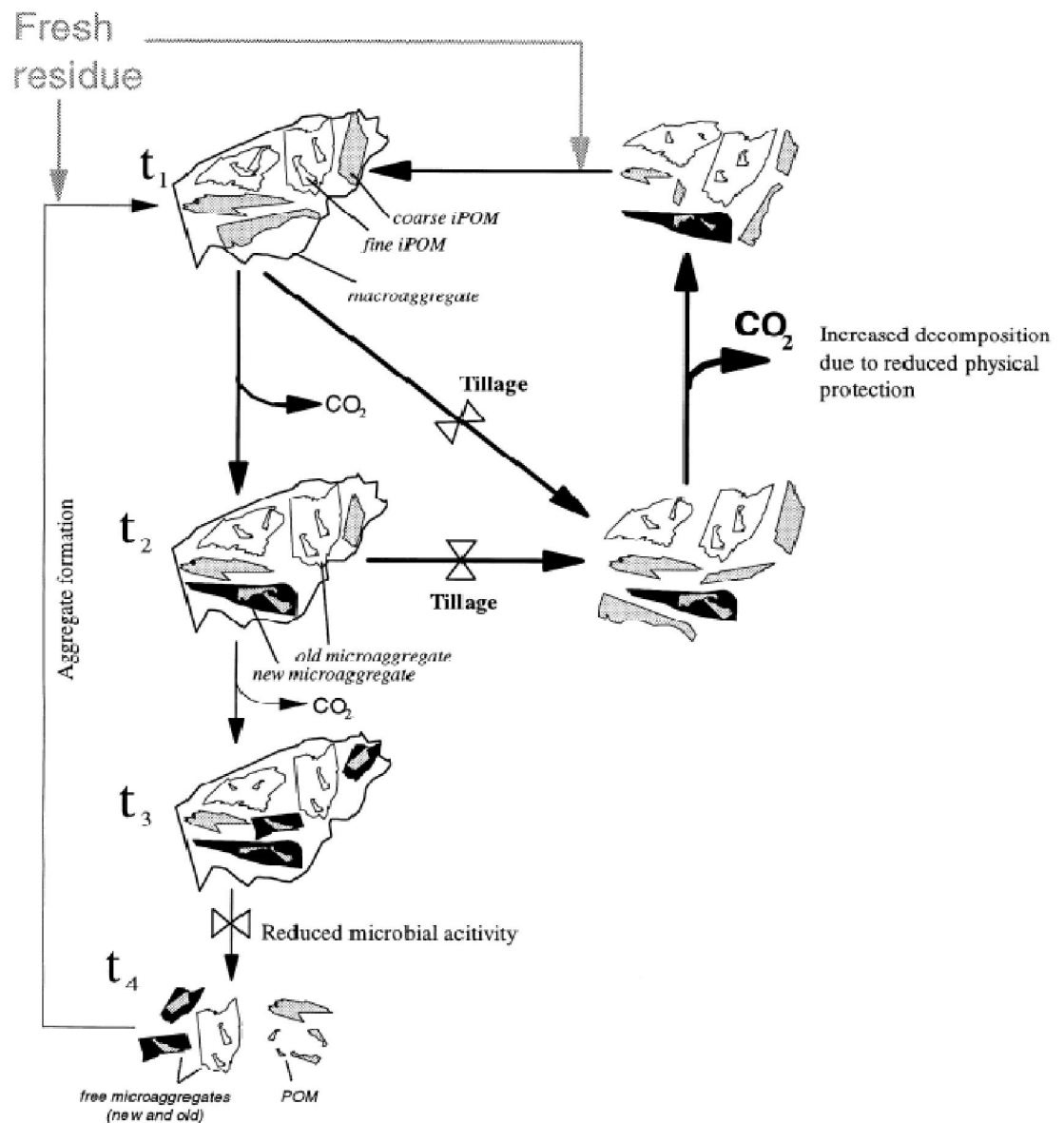
- (i) Aktivitas selulase (exocellulase dan  $\beta$ -glukosidase) berkorelasi positif dengan penambahan jumlah selulosa dan ketersediaan N; penurunan rasio C/N bahan organik sampai 40/10 mengakibatkan peningkatan aktivitas exocellulase dan beta-glukosidase masing-masing sebesar 18% dan 10%,
- (ii) Aktivitas protease meningkat dengan sejalan dengan penambahan jumlah protein;
- (iii) Awalnya, aktivitas protease dan selulase diinduksi oleh substrat yang sesuai dan peningkatan aktivitas kedua enzim mengakibatkan peningkatan secara proporsional evolusi karbon dioksida (CO<sub>2</sub>);
- (iv) Aktivitas enzim menjadi semakin ditentukan oleh faktor-faktor selain ketersediaan substrat, aktivitas enzim saja mungkin tidak cukup untuk menggambarkan proses dekomposisi, ketersediaan senyawa organik tertentu akan menentukan laju degradasi bahan organik.

#### **D. Peran Fungi dalam Pembentukan Bahan Organik Tanah**

Peran fisiologi fungi tanah dalam proses dekomposisi bahan organik dikaji oleh para peneliti mikroba tanah untuk mengetahui sejauh mana pemanfaatan mikroba tanah dapat memberikan sumbangan bagi peningkatan kesuburan tanah. Fungi mikoriza arbuskula (FMA) diakui sebagai kontributor tidak langsung melalui pengaruh mereka pada agregasi tanah, fisiologi tanaman, dan komposisi komunitas tumbuhan. Fungi FMA berkontribusi langsung dalam proses pembentukan bahan organik tanah. Terkait itu beberapa temuan penting adalah: (i) Glomalin, suatu senyawa glikoprotein ternyata diproduksi oleh hifa Fungi mikoriza arbuskula, di tanah tropis terdeteksi dalam konsentrasi lebih dari 60 mg cm<sup>-3</sup>, (ii) pola konsentrasi glomalin konsisten dengan hipotesis bahwa protein ini terakumulasi di dalam tanah, (iii) Ketahanan glomalin di dalam tanah jauh lebih lama (bertahun-tahun) dibandingkan ketahanan hifa fungi (hanya beberapa hari atau minggu saja); dari ditunjukkan omset pada skala waktu beberapa tahun untuk dekade, jauh lebih lama dari omset AMF hifa (yang diasumsikan di urutan hari minggu)., dan (iv) Jumlah C dan N dalam glomalin berkisar sekitar 4-5% dari jumlah tanah C dan N dalam tanah (Rillig *et al.*, 2001).



Beberapa penelitian terbaru tentang pembentukan dan stabilisasi agregat bahan organik tanah telah memberikan pemahaman tentang dinamika bahan organik tanah. Beberapa temuan dari penelitian dimaksud seperti yang diilustrasikan pada Gambar 2.1 dapat disimpulkan sebagai berikut: (1) mikroagregat tanah dan bukan makroagregat tanah yang melindungi bahan organik tanah dalam jangka panjang; dan (2) makroagregat berperan penting dalam proses yang mempengaruhi stabilisasi bahan organik tanah (Six et al., 2004).



Gambar 2.1 Model konseptual yang menunjukkan *cycle life* macroaggregate dan pembentukan microaggregates. IPOM = partikulat bahan organik intraaggregate; POM = partikulat bahan organik; T waktu;  $\times$  = Tingkat proses modifikasi) (Six et al., 2000)

Dari ilustrasi pada Gambar 2.1 dapat dinyatakan bahwa proses siklus makroagregat dan pembentukan mikroagregat ini merupakan hasil dari keterkaitan antara perubahan macroaggregates, perubahan BOT dan mengendalikan faktor-faktor seperti gangguan (yaitu pengolahan tanah). Proses terjadi sejalan dengan waktu dimulai dari pembentukan agregat kemudian menjadi tidak stabil dan akhirnya terganggu. Gangguan *life cycle* dari makroaggregates dimulai ketika persiapan lahan yang mengurangi tingkat pembentukan mikroaggregates baru, penyerapan C dalam mikroaggregates dan dalam tanah secara keseluruhan.

## BAB 3

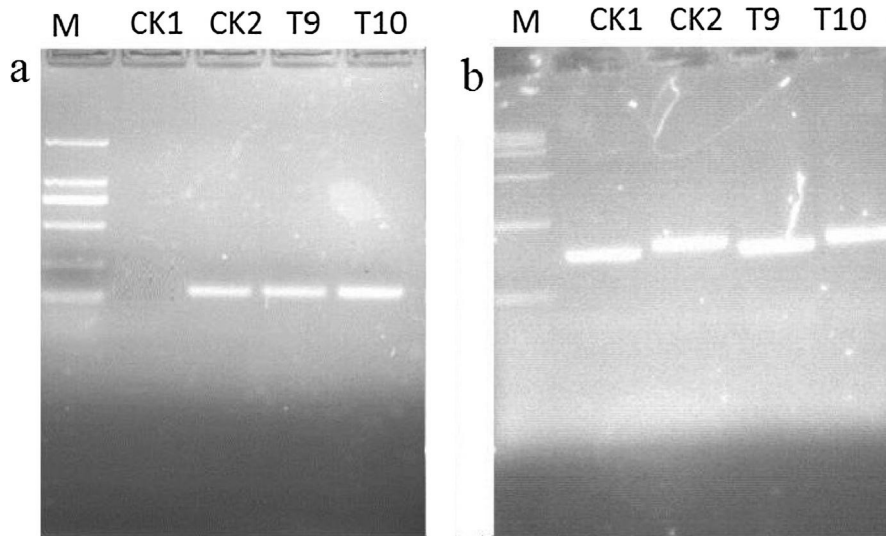
### FUNGI *TRICHODERMA*

#### A. Morfologi dan Identifikasi

Ada sekitar 89 spesies *Trichoderma* telah diberi nama, dan beberapa spesies *Hypocrea* telah dikaitkan sebagai *anamorf Trichoderma*; berdasarkan analisis filogenetik terhadap 11 spesies *Hypocrea* yang *anamorf Trichoderma* dapat disimpulkan bahwa *Trichoderma* dan *Hypocrea* adalah *congeneric* atau keduanya dari keluarga yang sama (Samuels, 2006). Dengan kemajuan teknologi biomolekular, maka analisis filogenetik molekuler saat ini dapat menjelaskan adanya perbedaan dan/atau sebarah jauh tingkat kekerabatan suatu jenis dengan yang lain. Untuk memudahkan identifikasi spesies, daftar strain diidentifikasi berdasarkan marka molekuler tertentu.

Saat ini pernyataan jenis fungi didukung oleh informasi genetika berdasarkan suatu prosedur multiplikasi DNA inti yang dipotong dengan enzim tertentu. Kolonisasi *Trichoderma* dan eksistensi efek penekanan terhadap patogen yang menyerang tanaman tertentu misalnya juga dapat dideteksi dengan menggunakan teknik yang memanfaatkan marka molekuler spesifik. Untuk tujuan tersebut, penggandaan sekuen ITS (internal transcription spacer) CCTCC-RW0014 yang merupakan sekuen DNA ini khas tertentu fungi *T. asperellum* dan patogen yang berasosiasi dalam suatu serangan penyakit busuk pada mentimun, digunakan metode RT-qPCR dengan primer spesifik untuk *Trichoderma*: TriITSF (50-GGGTGTTCCTACGGACGTGGA-30) dan Tri-ITSR (50-CCTGTCCGAGCGTCATTTCA-30) dan untuk patogen *Fusarium*: FOC-ITSF (50-GAAGTTGGGGTTTAACGGCG-30) dan FOC-ITSR (50-GCCTGTTCGAGCGTCATTTTC-30) (Lievens *et al.*, 2006). Hasil pengujian disajikan pada Gambar 4.1. Pola pita yang ditunjukkan berbeda dengan menggunakan primer yang berbeda yang berbeda. Pada perlakuan kontrol (tidak menggunakan patogen) tampak tidak ada pita dibandingkan dengan yang diinokulasi patogen (kolom disebelahnya). Dari gambar tersebut ditunjukkan pita yang menunjukkan eksistensi keberhasilan *Trichoderma* dalam mengendalikan patogen.

..



Gambar 3.1 Analisis spesifisitas primer dengan menggunakan elektroforesis gel: (a) amplifikasi gen ITS dari FOC oleh primer spesifik FOC-ITSF dan FOC-ITSR; (B) amplifikasi gen ITS dari *T. asperellum* CCTCC-RW0014 oleh primer spesifik Tri-ITSF, Tri-ITSR. Kolom CK1 (diinokulasi tanah steril); kolom CK2 (tanah diinokulasi dengan FOC); kolom T9 (tanah diinokulasi dengan *T. asperellum* CCTCC-RW0005 dan FOC); kolom T10 (tanah diinokulasi dengan *T. asperellum* CCTCC-RW0014 dan FOC).

### Identifikasi dan determinasi Spesies *Trichoderma*

Determinasi spesies *Trichoderma* biasanya didasarkan pada bentuk dan warna konidiasi dan phialid serta ukuran konidiospora. Gamas dan Bissett (2002) menyampaikan kunci dalam mendeterminasi spesies *Trichoderma* sebagai berikut, yang dilengkapi dengan ilustrasi morfologi masing-masing spesies pada Gambar 3.2-3.6:

#### (i) Kunci determinasi kelompok *Trichoderma*:

- 1 (a) Konidiasi effuse, konidia tidak hijau; konidiofor dengan sedikit atau tidak ada cabang lateral; phialides muncul di verticils terminal sederhana, silindris hingga lageniform, "Cephalosporium" -seperti. .... bagian *Hypocreanum*
- 1 (b) Konidiasi effuse atau fasciculate hingga berpustul, konidia konidia sering berwarna hijau; konidiofor dan sering memiliki cabang lateral; phialid sebagian besar lageniform hingga ampulliform. .... 2
- 2 (a) Conidiophore sumbu utama panjang dengan cabang sekunder yang pendek, percabangan tidak ekstensif; cabang dan phialides sering muncul tunggal, terutama yang terminal; konidia halus tapi kadang-kadang dengan mencolok, *sinuate*, seperti bersayap atau ornamen *bullate*. .... bagian *Longibrachiatum*

- 2 (b) Konidiofor memiliki percabangan berulang; cabang dan phialides berpasangan atau *verticillat*, juga terletak pada terminal ujung;; konidia berdinding halus atau *verrucose*. . . . . 3
- 3 (a) Konidiofor dan cabang yang relatif melebar (sumbu utama 10  $\mu\text{m}$  lebar); phialides di verticils 2-7, ampulliform untuk lageniform; konidia hijau, kecoklatan atau hialin. . . . . bagian *Pachybasium*
- 3 (b) Konidiofor dan cabang sempit dan flexuous (poros utama 6  $\mu\text{m}$  lebar); phialides kebanyakan verticils sebanyak 2 atau 3 (-5), *lageniform* hingga *subulate*; konidia selalu hijau. . . . . Bagian *Trichoderma*
- (ii) Kunci determinasi spesies *Trichoderma* bagian *Trichoderma*:
- 1 (a) Koloni tumbuh lambat, mencapai kurang dari 6 cm diameternya dalam 7 hari pada suhu 20 ° C . . . . . 2
- 1 (b) Koloni lebih cepat tumbuh. . . . . 3
- 2 (a) Koloni kuning-hijau, *floccose*; *phialides* ramping hampir seperti *Verticillium* tetapi lengkung; konidia obovoid dengan basis truncate, berukuran 3,0-5,0  $\times$  2,0-3,2  $\mu\text{m}$ . . . . . 2. *Trichoderma aureoviride* anam. dari *aureoviridis* Hypocrea
- 2 (b) koloni hijau, granular, mudah bersporulasi; phialides berbentuk labu; konidia ellipsoid, 3,5-5,0  $\times$  2,0-2,6  $\mu\text{m}$ . [*Trichoderma* anam. dari *Podostroma alutaceum*]
- 3 (a) Konidia silinder, 3,0-4,8  $\times$  1,9-2,8  $\mu\text{m}$ . . . . . 4. *T. koningii* agregat
- 3 (b) Konidia subglobose hingga ellipsoidal pendek atau bulat telur. . . . . 4
- 4 (a) Konidia bulat telur dengan basis truncate, ukuran 3,5-5,0  $\times$  2,5-3,2  $\mu\text{m}$ . . . . . 5. *Hypocrea Vinosa*
- 4 (b) Konidia subglobose hingga ellipsoidal pendek-. . . . . 5
- 5 (a) Konidia matang penuh warna hijau pucat, 2,5-3,5  $\times$  2,1-3,0  $\mu\text{m}$ . . . . . 3. *T. harzianum* agregat
- 5 (b) Konidia matang penuh atau dewasa menjadi hijau tua. . . . . 6
- 6 (a) Konidia dewasa berdinding kasar, berukuran 3,6-4,5  $\mu\text{m}$  diameternya atau 4.0-4.8  $\times$  3,5-4,0  $\mu\text{m}$ . . . . . 6. *T. viride* agregat
- 6 (b) Konidia matang/dewasa berdinding halus, berukuran biasanya 2,6-3,8  $\times$  2,2-3,4  $\mu\text{m}$ . . . . . 1. *T. atroviride*
- (iii) Kunci determinasi spesies *Trichoderma* bagian *Pachybasium*:

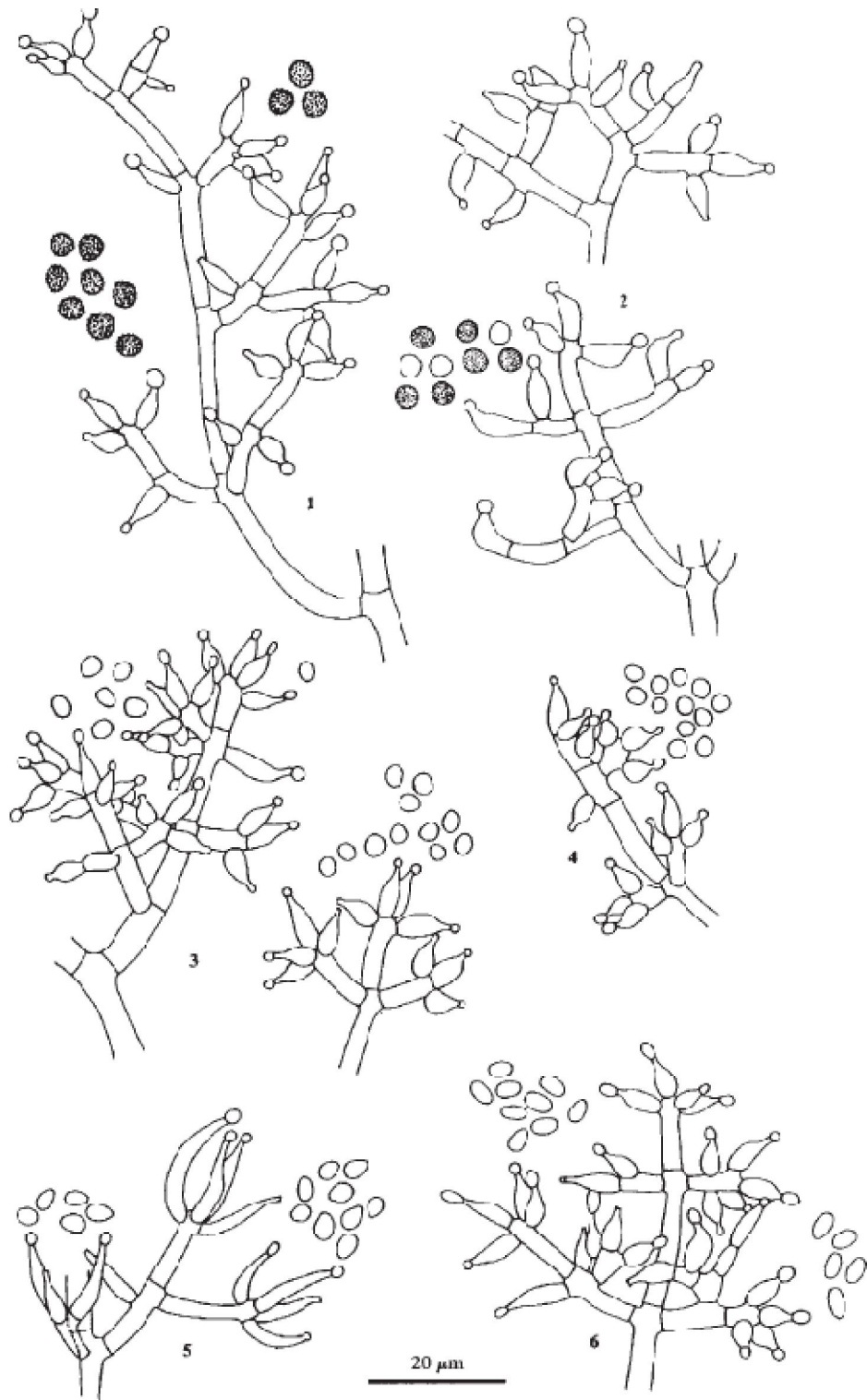


- 1 (a) Konidiasi seluruhnya effuse, atau konidiofor dibentuk dalam pustula datar atau fasikula kecil tidak teratur; konidiofor sedikit bercabang dengan cabang utama paling sering muncul secara tunggal atau berpasangan [jika konidia hialin, lihat 9 (b)]. . . . 2
- 1 (b) Konidiofor terusun kompak, hemispherical hingga pustula berbentuk bantal; konidiofor biasanya bercabang dengan 2-4 cabang yang vertisilet . . . . . 8
- 2 (a) Konidiofor terusun dalam fasikula berdiameter hingga 2 mm . . . . . 3
- 2 (b) Konidiofor effuse, atau tersusun longgar dalam pustula datar. . . . . 4
- 3 (a) Koloni berdiameter kurang dari 4 cm setelah 4 hari pada 20 ° C; hifa aerial lebih dari 1,5  $\mu\text{m}$  lebarnya; phialid konvergen; chlamydo-spores jarang; konidia 2,54,5  $\times$  2,0-3,1  $\mu\text{m}$ . . . . . 12. *Trichoderma* anam. dari *Hypocrea gelatinosa*
- 3 (b) Koloni berdiameter lebih dari 4 cm setelah 4 hari; hifa aerial sebagian besar kurang dari 1,5  $\mu\text{m}$  lebarnya; phialid berbeda; chlamydo-spores melimpah di miselium yang lebih tua; konidia 2,9-4,0  $\times$  2,0-2,9  $\mu\text{m}$ . . . . . 9. *T. fasciculatum*
- 4 (a) Konidia subglobose hingga obovoid, lebih kecil dari 3,5  $\times$  2,5  $\mu\text{m}$ , hijau agak pucat . . . . . 5
- 4 (b) Konidia elips meluas, lebih besar dari 3,5  $\times$  2,5  $\mu\text{m}$ , warna lainnya. . . . . 6
- 5 (a) Konidiasi biasanya menyebar; phialid berbentuk labu, 5,5-7,5 (di posisi-terminal 10)  $\times$  2,5-3,2  $\mu\text{m}$ , dalam kelompok yang berbeda dari 3-5; konidia subglobose hingga shortobovoid, 2,5-3,5  $\times$  2,1-3,0  $\mu\text{m}$ . . . . . lihat 3. *T. harzianum* agregat
- 5 (b) Konidiasi lebih atau kurang pustular tapi tanpa pelengkap steril; phiali berbentuk labu meluas, 4-5 (-7)  $\times$  2,3-3,0  $\mu\text{m}$ ; konidia subglobose, 2,3- 3,0  $\times$  2,0-2,6  $\mu\text{m}$ . . . . . 14. *T. inhamatum*
- 6 (a) Konidia coklat muda, 3,0-5,3  $\times$  2,4-4,3  $\mu\text{m}$ . . . . . 11. *T. flavofuscum*
- 6 (b) Konidia hijau gelap. . . . . 7
- 7 (a) Konidiofor terkumpul di dalam pustula datar di medium agar, biasanya dengan pemanjangan apikal yang steril; phialid berbeda; konidia 3,7-5,3  $\times$  2,6-3,7  $\mu\text{m}$ . . . . . 7. *T. crassum*
- 7 (b) Konidiasi seluruhnya effuse, atau konidiofor tanpa pemajangan apikal yang steril; phialid konvergen dengan hala berbentuk *penicillate*; konidia 3,5-6,0  $\times$  2,8-4,1  $\mu\text{m}$ . . . . . 26. *T. virens*
- 8 (a) (1) Konidiasi memunculkan warna putih mengkilap . . . . . 9
- 8 (b) Konidiasi akhirnya hijau ke abu-abu. . . . . 10

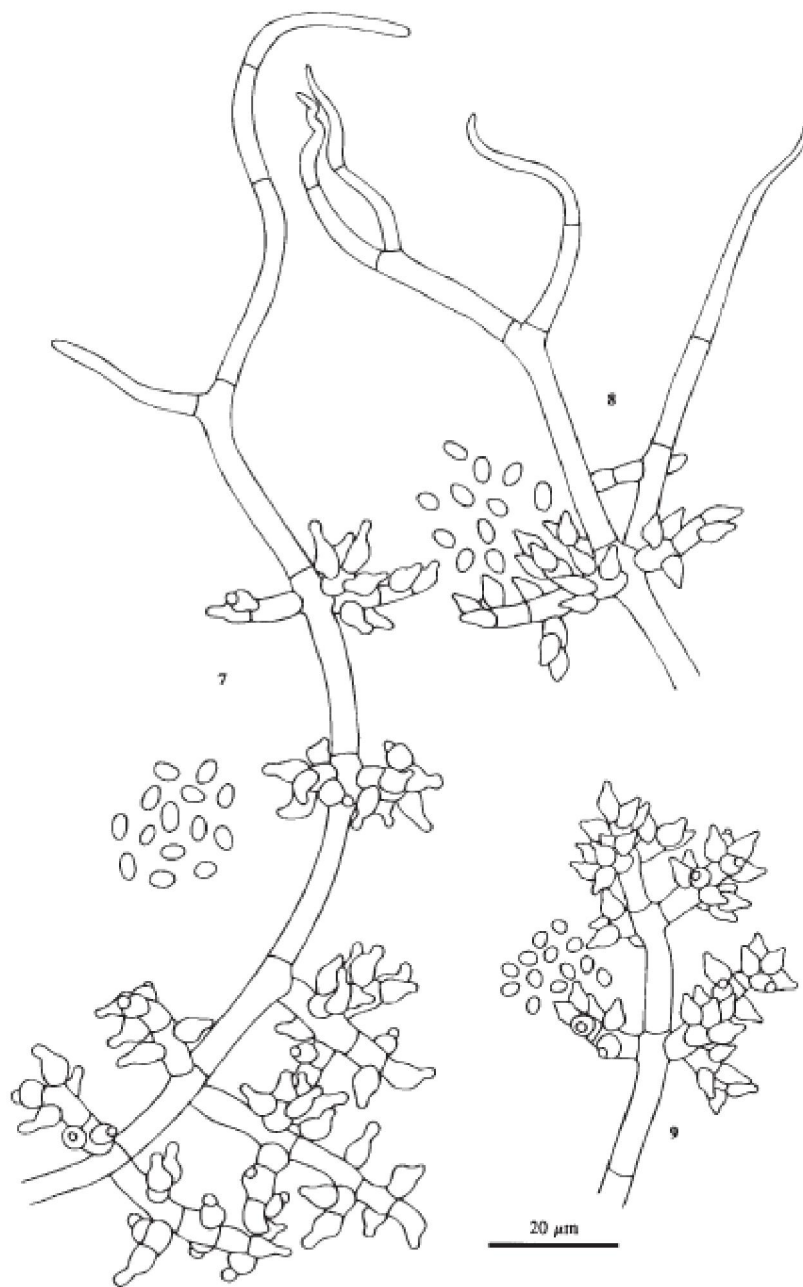
- 9 (a) Konidiofor spiral, pemanjangan apikial steril; phialides berbeda/divergent; konidia ellipsoid,  $2,3-3,6 \times 1,4-2,2 \mu\text{m}$  . . . . . 19. *T. polysporum*
- 9 (b) Konidiofor tanpa pemanjangan apikial steril; phialides kurang lebih konvergen; konidia subglobose,  $2,5-3,5 \mu\text{m}$  diameternya. . . . . 18. *T. piluliferum*
- 10 (a) Konidiofor kasar mencolok, spiral, pemanjangan apikal steril; kondisasi kuning kehijauan cerah atau kemerahan cerah; konidia  $2,8-4,0 \times 1,8-2,5 \mu\text{m}$ . . . 8. *T. croceum*
- 10 (b) Konidiofor tanpa pemanjangan apikal steril atau dengan pemanjangan dan tidak kasar; kondisasi berbagai variasi warna mulai dari hijau hingga abu-abu. . . . . 11
- 11 (a) Konidiofor diatur dalam pustula hingga 2 mm diameternya, hijau keabu-abuan hingga abu-abu; dan konidiofor utama dengan sumbu berukuran lebar  $4,5-7 \mu\text{m}$  di atas bagian yang fertil; konidia  $3,0-4,6 \times 1,8-2,7 \mu\text{m}$  . . . . . 21. *Trichoderma* anam. dari *Hypocrea semiorbis*
- 11 (b) Konidiofor dengan pustula yang lebih besar, biasanya berwarna hijau; atau konidiofor dengan sumbu utama tidak melebihi  $5,5 \mu\text{m}$  lebarnya di atas bagian yang fertil. . . . . 12
- 12 (a) Konidia secara konsisten kurang dari  $3,5 \mu\text{m}$  panjang dan  $2,5 \mu\text{m}$  lebar. . . . . 13
- 12 (b) Konidia sebagian besar lebih panjang dan/atau lebih lebar . . . . . 15
- 13 (a) Konidia subglobose hingga obovoid yang meluas. . . . . lihat 5
- 13 (b) Konidia ellipsoid,  $2,5-3,4 \times 1,8-2,3 \mu\text{m}$ . . . . . 14
- 14 (a) Area berkonidia hijau terang hingga hijau ke kuningan, konidiofor dengan poros utama bercabang dan fertil hingga ke ujungnya. . . . . 16. *T. minutisporum*
- 14 (b) Area berkonidia abu-abu hijau, sumbu utama konidiofor spiral mencolok dengan pemanjangan apikal steril. . . . . 25. *T. tomentosum*
- 15 (a) Bagian bawah koloni tampak mencolok dengan pigmen berwarna kuning hingga coklat kemerahan; sumbu utama konidiofor sangat gemuk dengan lebar  $4-6,5 \mu\text{m}$  pada bagian dasar yang steril. . . . . 16
- 15 (b) Bagian bawah koloni tampak berwarna kekuningan pucat kusam; sumbu utama konidiofor biasanya berukuran lebar  $3,5-5 \mu\text{m}$  pada bagian dasar yang steril. . . . . 17
- 16 (a) Poros utama konidiofor relatif tegak lurus, bagian atas tidak bercabang dan nonfertil mendekati puncak, yang diakhiri oleh phialide tunggal atau lebih sering dengan 2-3 cabang steril di ujung; konidia  $3,0-4,5 \times 1,9-2,5 \mu\text{m}$ . . . . . 10. *T. fertile*

- 16 (b) Sumbu utama konidiofor dengan spiral, apikal perpanjangan steril, tidak memiliki cabang fertil dekat ujungnya; konidia  $3,0-4,4 \times 1,8-2,7 \mu\text{m}$ . . . . . 22. *T. spirale*
- 17 (a) Konidia selalu silindris, sering berukuran panjang lebih dari  $4,5 \mu\text{m}$ , tidak pernah lebih pendek dari  $3,5 \mu\text{m}$ . . . . . 18
- 17 (b) Konidia silindris hingga ellipsoid, jarang berukuran panjang lebih dari  $4,5 \mu\text{m}$ , sering lebih pendek dari  $3,5 \mu\text{m}$ . . . . . 19
- 18 (a) Sumbu utama konidiofor berombak hingga spiral dengan pemanjangan yang steril bercabang dan *anastomosis* ke bagian yang berukuran  $100 \mu\text{m}$  dari ujung (apeks) yang mengecil; konidia  $3,9-5,7 \times 2,0-3,0 \mu\text{m}$ . . . . . 15. *T. longipile*
- 18 (b) Poros utama konidiofor lurus hingga melengkung flexuous dengan elongasi steril dengan sedikit bercabang dan bagian ujungnya (apeks) membulat; konidia  $3,5-5,0 \times 1,7-2,8 \mu\text{m}$ . . . . . 17. *T. oblongisporum* [Jika konidia elips meluas,  $3,7-5,3 \times 2,6-3,7 \mu\text{m}$ , lihat juga 7 (a)]
- 19 (a) Sumbu utama konidiofor lurus hingga membengkok (flexuous) dengan elongasi steril. . . . . 20
- 19 (b) Sumbu utama konidiofor berombak hingga menggulung atau *circinate* dengan elongasi steril. . . . . 21
- 20 (a) Pustul berkonidia warna hijau kebiruan, kaku dan berduri karena, apeks konidiofor steril berbentuk seperti lembing; konidia  $3,0-4,8 \times 1,8-2,5 \mu\text{m}$ . . . 24. *T. strigosum*
- 20 (b) Pustul berkonidia hijau kusam, panjang dan berbulu, lurus hingga membengkok (*flexuous*) dengan apeks konidiofor steril; konidia  $2,8-4,0 \times 2,2-3,0 \mu\text{m}$ . . . . . 23. *T. strictipile*
- 21 (a) Pustul berkonidia hijau kebiruan. . . . . 22
- 21 (b) Pustu berkoidia hijau terang, bercabang dengan permukaan berbulu halus, berombak, tipis, apeks konidiofor steril; konidia  $3,1-4,7 \times 2,0-2,9 \mu\text{m}$ . . . . . 20. *T. pubescens*
- 22 (a) Pustula conidiogenous seperti berbeludru, berombak atau bengkok, apeks konidiofor steril; konidia  $3,0-4,5 \times 2,1-2,8 \mu\text{m}$ . . . . . 13. *T. hamatum*
- 22 (b) Pustula conidiogenous seperti wol karena kasar, apeks konidiofor spiral; konidia  $3,0-4,4 \times 1,8-2,7 \mu\text{m}$ . . . . . 22. *T. spirale*
- (iv) Kunci determinasi spesies *Trichoderma* bagian *Longibrachiatum*:

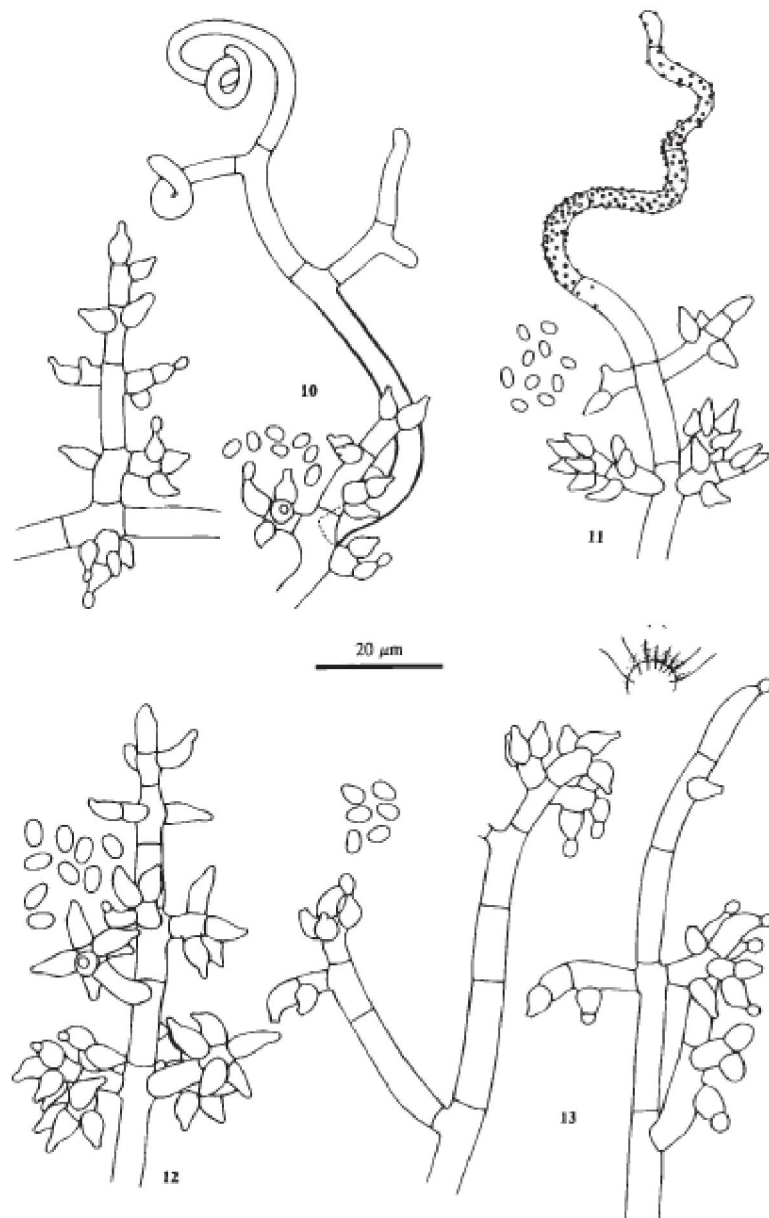
- 1 (a) Konidia ellipsoid, dihiasi dengan sasa yang mencolok dan ornamen seperti kutil, berukuran  $3,6-5,8 \times 2,8-3,4 \mu\text{m}$ , hijau gelap. . . . . 33. *T. saturnisporum*
- 1 (b) Konidia umumnya berdinding halus atau konidia dengan ekstensi pustul dari lapisan luar dindingnya. . . . . 2
- 2 (a) Konidiofor dengan cabang samping berbantal yang umumnya dengan satu atau dua cabang; phialides jelas mengerut di dasar; konidia kebanyakan berukuran kurang dari  $4,0 \times 2,5 \mu\text{m}$ . . . . . 3
- 2 (b) Konidiofor dengan sangat sedikit cabang; phialides hampir silindris dan pada bagian dasarnya berkerut atau tidak sama sekali; konidia sebagian besar dari  $4,0 \times 2,5 \mu\text{m}$ . . . . . 4
- 3 (a) Koloni dengan daerah konidia biasanya membentuk pustula besaryang kompak; konidiasi bernuansa hijau kekuningan atau olive pada kultur yang lebih tua; konidia ellipsoidal dan kebanyakan berukuran kurang dari  $3,5 \times 2,0 \mu\text{m}$ . . . . . 27. *T. citrinoviride*
- 3 (b) Koloni dengan daerah konidia luas *effused* dan tidak membentuk pustul; konidiasi sebagian besar berwarna hijau kebiruan dan tidak gelap sesuai dengan usianya; konidia ellipsoidal hingga hampir silindris dan kebanyakan berukuran  $4,0-5,0 (-6,0) \times 2,5-3,0 \mu\text{m}$ . . . . . 30. *T. pseudokoningii*
- 4 (a) Konidia sebagian besar lebih panjang dari  $5,0 \mu\text{m}$ , biasanya berukuran  $6,0-7,5 \times 3,0-3,7 \mu\text{m}$ , ellipsoidal, hijau tua, sering bercampur dengan bentuk yang lebih sempit, pucat, konidia silindris,  $5,0-6,0 \times 2,0-2,5 \mu\text{m}$ . . . . . 5
- 4 (b) Konidia biasanya lebih pendek dari  $5,0 \mu\text{m}$ . . . . . 6
- 5 (a) Konidia berdinding halus secara konsisten . . . . . 29. *T. parceramosum*
- 5 (b) Konidia sempit oval hingga subsilindris,  $5,6-8,2 \times 2,9-3,8 \mu\text{m}$ , berdinding halus, tetapi beberapa memiliki percabangan pustul dari lapisan luar dinding konidia. . . . . 32. *T. ghanense*
- 6 (a) Konidia pendek silinder hingga obovoid, dengan bagian dasar berbentuk kerucut meruncing,  $4,0-5,5 \times 2,0-2,5 \mu\text{m}$ ; tidak berwarna. . . . . 28. *T. longibrachiatum*
- 6 (b) Konidia obovoid hingga ellipsoid,  $3,5-4,5 \times 2,3-3,0 \mu\text{m}$ ; koloni memancarkan pigmentasi kuning dalam agar-agar. . . . . 31. *T. reesei*



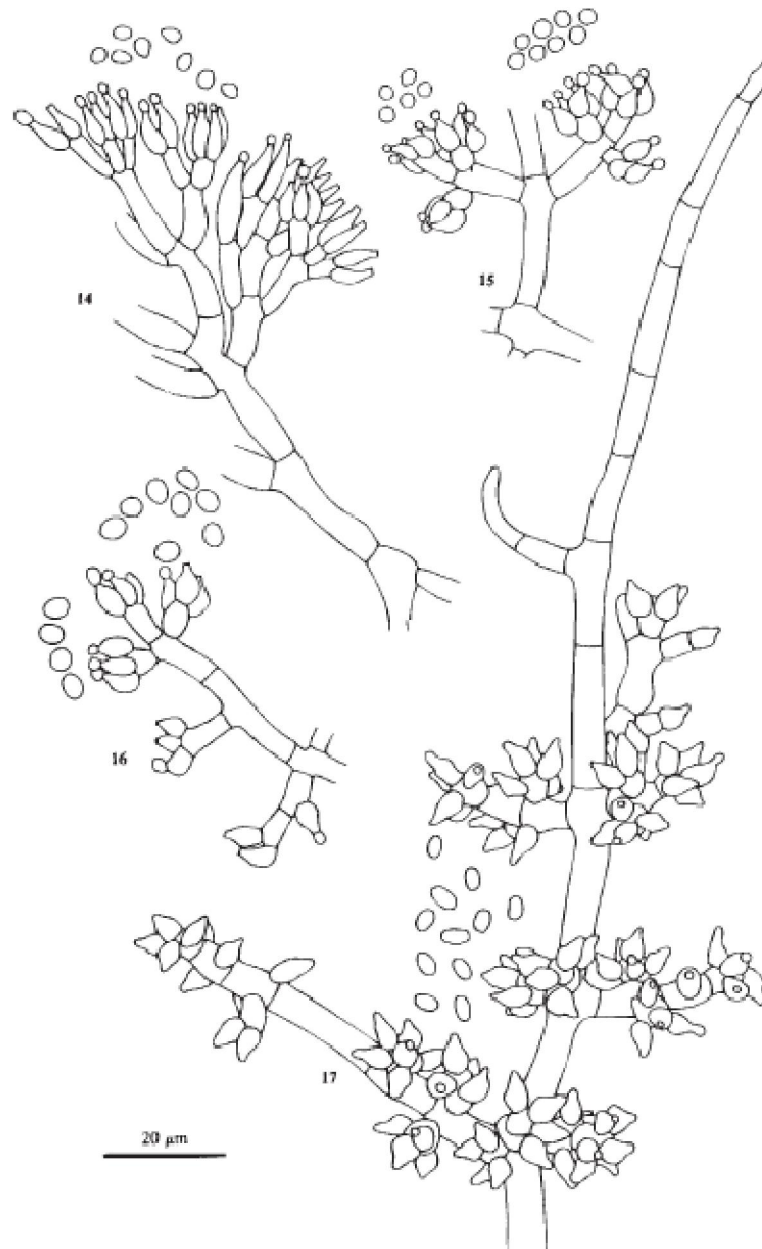
**Gambar 3.2** *Trichoderma* dari bagian *Trichoderma*. *T. viride*, CBS 189.79 (1). *T. atroviride* CBS 351.93 (2). *T. harzianum*, CBS 226.95 (3), *T. inhamatum*, CBS 274.72 (4), *T. aureoviride*, CBS 283.79 (5). *T. koningii*, CBS 457.96 (6)(Gamas dan Bissett, 2002).



Gambar 3.3 *Trichoderma* dari bagian *Pachybasium*. *T. hamatum* DAOM 164925 and 175932 (7 dan 8), *T. minutisporum*, DAOM 175931 (9) (Gamas dan Bissett, 2002).

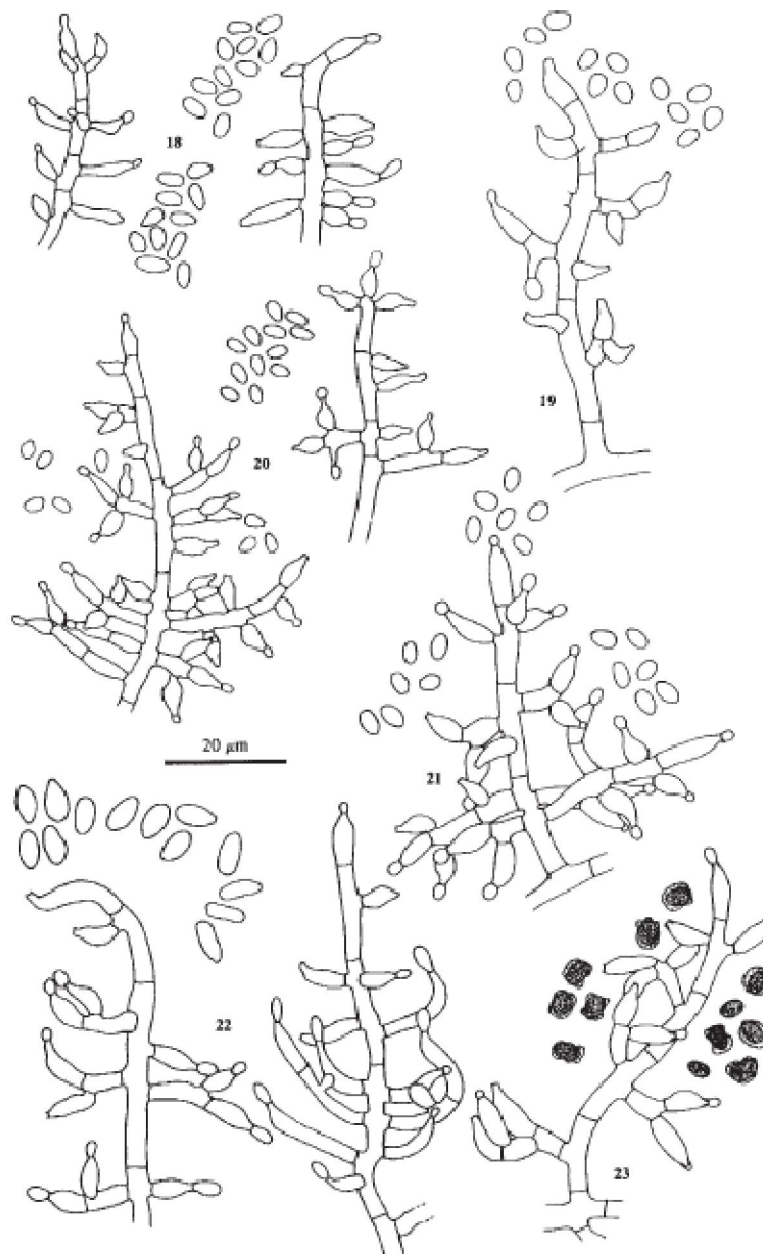


Gambar 3.4 *Trichoderma* dari bagian *Pachybasium*. 10, 11. *T. polysporum*, CBS 147.69 dan DAOM 167156 (10 dan 11) menunjukkan appendiks kasar yang steril, *Hypocrea semiorbis*, DAOM 167636 (12), *T. fertile* biasanya dengan guratan *pustul konidial*, CBS 339.93 175931 (13) (Gamas dan Bissett, 2002).



Gambar 3.5 *Trichoderma* dari bagian *Pachybasium*. *H. gelatinosa*, CBS 724.87 (14), *T. piluliferum*, CBS 224.84 (15), *T. virens*, CBS 497.84 (16), *T. oblongisporum*, DAOM 167085 (17) (Gamas dan Bissett, 2002).





Gambar 3.6 *Trichoderma* dari bagian *Longibrachiatum*. *T. longibrachiatum*, CBS 816.68 (18), *T. reesei*, descendant of CBS 383.78 (19), *T. citrinoviride*, CBS 619.83 dan 258.85 (20). *T. pseudokoningii*, CBS 408.91 (21), *T. parceramosum*, CBS 259.85 dan 487.78. 23. *T. saturnisporum*, CBS 355.92 (22) (Gamas dan Bissett, 2002).

Berdasarkan kunci determinasi (Gams dan Bissett, 2002), maka *Trichoderma* isolat 19TJJ-2) (koleksi Sutarman, 2016) ternyata sesuai dengan deskripsi *Trichoderma harzianum*.



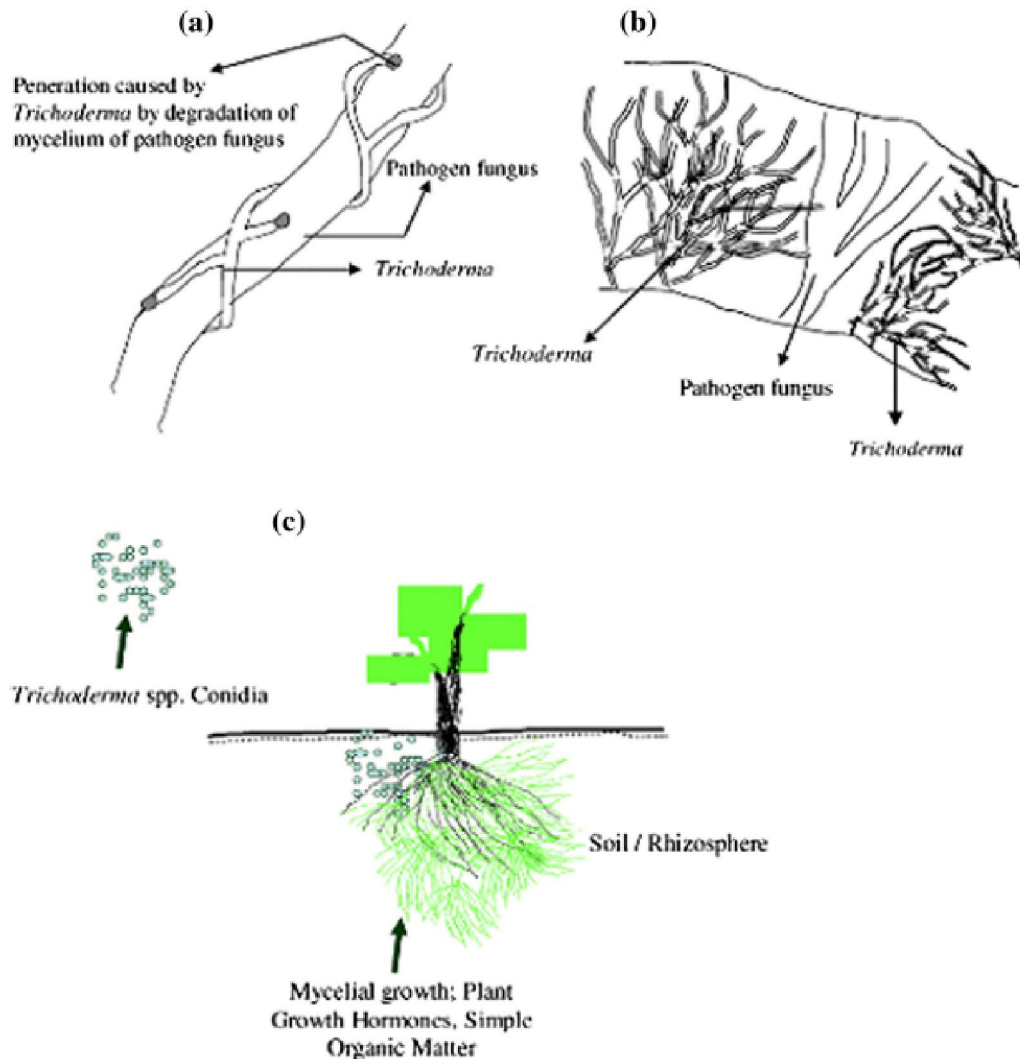
Gambar 3.7 *Trichoderma harzianum* yang diisolasi dari tanah di bawah tegakan *Pinus merkusii* (Foto: koleksi Sutarman, 2016)

## B. Bioekologi Fungi *Trichoderma*

Fungi *Trichoderma* memiliki laju pertumbuhan yg cepat di media dengan miselium berwarna putih dan memproduksi sejumlah spora (konidia) dengan warna hijau yang bervariasi pada genus *Trichoderma*; sebaliknya koloni sering tidak berwarna, mengkilat, kuning, amber, hijau kekuningan, dan banyak spesies menghasilkan spora berdinding sel tebal (klamidospora) dari miseliumnya. Fungi genus *Trichoderma* ada di mana-mana di seluruh dunia serta mudah diisolasi dari tanah, kayu yang melapuk, dan berbagai bentuk bahan organik lainnya (Howell, 2003).

Secara ekologi *Trichoderma* memberikan peranan yang penting dalam menentukan dinamika kehidupan dalam ekosistem rhizosfer. Verma et al. (2007) menyampaikan

aktivitas dalam kehidupan *Trichoderma* yang menunjukkan peran pentingnya di rhizosfer pertanian yaitu: (i) peran sebagai mikoparasit terutama bagi fungi patogen, (ii) menghasilkan suatu simbiosis kompetisi secara langsung bagi mikroba tanah lainnya, dan (iii) menghasilkan metabolit yang dapat berperan sebagai hormon pertumbuhan bagi tumbuhan. Ilustrasi model peran *Trichoderma* ditunjukkan pada Gambar 3.8.



Gambar 3.8 Pertumbuhan kegiatan *Trichoderma* spp. secara tidak langsung: (a) mikoparasitisme, (b) kompetisi; secara langsung: (c) pertumbuhan miselia di sekitar rizosfer tanamanb dan produksi metabolit (Verma *et al.*, 2007).

Seperti diperlihatkan pada ilustrasi di atas khususnya peran *Trichoderma* yang menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman dan bahan organik sederhana adalah merupakan fungsi pengendali kesburuan tanah, Dengan demikian fungi ini dapat diposisika sebagai agen biofertilizer.

Sebagai biofertilizer *Trichoderma* telah terbukti mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman bahkan vegetasi lain di pertanian, Buysens *et al.* (2016) telah menguji kemampuan *Trichoderma* sebagai ferilizer pada tanaman kentang yang dikombinasikan dengan tanaman penutup tanah (Tabel 3.1).

Tabel 3.1. Bobot umbi kentang dan karakteristik (persentase umbi yang memiliki panjang > 30 mm terhadap jumlah umbi per tanaman) kultivar Sarpo Mira pada perlakuan inokulasi, pemberian cover crop dan kombinasi keduanya (Buysens *et al.*, 2016)

Treatments	Potato tubers		
	Weight per plant (g)	Size > 30 mm (%)	Number per plant
<b>Inoculation (I)</b>			
I+	1245 ± 39 a <sup>a</sup>	62 ± 2	10 ± 0 a
I–	1016 ± 34 b	64 ± 1	8 ± 0 b
<b>Cover Crop (CC)</b>			
CC+	1204 ± 39 a	64 ± 2	9 ± 0
CC–	1057 ± 34 b	61 ± 1	8 ± 0
<b>Inoculation (I) × Cover Crop (CC)</b>			
I+CC +	1420 ± 80 a	62 ± 1	11 ± 1 a
I+CC–	1040 ± 20 b	62 ± 3	8 ± 0 b
I–CC+	990 ± 80 b	67 ± 1	7 ± 1 b
I–CC–	1040 ± 20 b	61 ± 2	8 ± 0 b
<b>Mixed model</b>			
	p-value		
I	***	ns	***
CC	*	ns	ns
I × CC	**	ns	***

Fungi *Trichoderma* meningkatkan bobot panen per tanaman, ukuran umbi kentang, dann jumlah umbi per tanaman secara signifikan. Penggabungan perlakuan inokulasi dengan penggunaan tanaman penutup tanah jauh meningkatkan bobot dan jumlah umbi per tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa fungi *Trichoderma* juga memberi manfaat bagi tanaman penutup tanah yang pada akhirnya meningkatkan produksi tanaman secara keseluruhan.

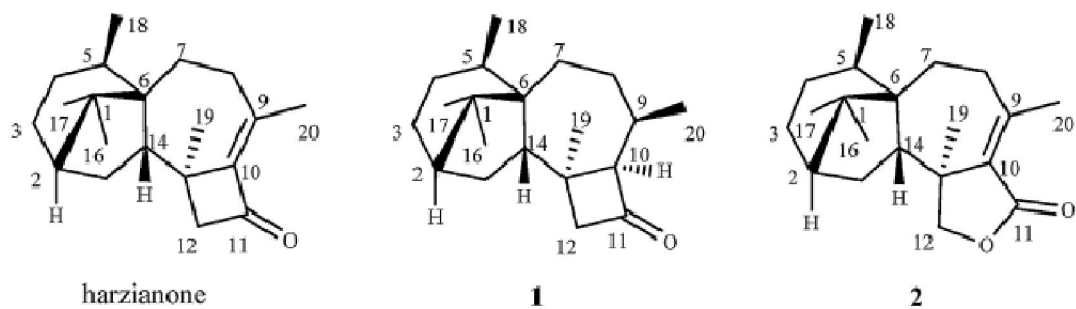
### C. Fisiologi Fungi

Selain memiliki kemampuan menghasilkan metabolit anti mikroba, mikoparasit, kemampuan berkompetisi secara spasial, menghasilkan metabolit sekunder, juga menghasilkan berbagai enzim yang dapat dikembangkan bagi keperluan produksi masal seperti selulase, hemiselulase, protease, dan  $\beta$ -1,3-glukanase (Verma *et al.*, 2007), *Trichoderma* produksi senyawa spesifik dan metabolit, seperti faktor pertumbuhan tanaman, enzim hidrolitik, siderophores, antibiotik, dan karbon dan nitrogen permeases (Benítez *et al.*, 2004). *Trichoderma* spp. menghasilkan berbagai jenis enzim di antaranya kitinase dan  $\beta$ -1,3 glukanases yang membuatnya memiliki kemampuan mikoparasit (Harman, 2006).

*Trichoderma* berkemampuan mensintesis berbagai senyawa yang berbeda seperti protein, enzim, antibiotik yang dapat meningkatkan kemampuannya mengendalikan fungi patogen (Al-Taweil *et al.*, 2009). *Trichoderma* spp menghasilkan sejumlah senyawa aktif secara biologi termasuk enzim yang dapat mendegradasi dinding sel meliputi selulase, kitinase, dan glukanase (Vinale *et al.*, 2008).

*Trichoderma* juga ternyata memiliki kemampuan memnginduksi peningkatan aktivitas enzim yang dapat digunakan untuk pertahanan tanaman dari serangan patogen. *T. harzianum* meningkatkan kadar enzim peroksidase, polifenol oksidase dan superoksida dismutase serta induksi hormon pertumbuhan dan enzim pertahanan pada tanaman tomat (Chowdappa *et al.*, 2013). Akar tanaman mentimun yang diperlakukan dengan pemberian *Trichoderma harzianum* T-203 ternyata telah terjadi penngkatan aktivitas enzim kitinase (EC 3.2.1.14),  $\beta$ -1,3-glukanase (EC 3.2.1.6), cellulase (EC 3.2.1.4) and peroxidase (EC 1.11.1.7) sampai pada 72 jam setelah inokulasi; aktivitas kitinase pada bagian akar baru memungkinkan lokalisasi *Trichoderma* di ruang antarsel jaringan akar memberikan peluang terjadinya peningkatan sistem pertahan tanaman terhadap patogen (Yedidiaa *et al.*, 2000).

Zhang *et al.* (2016) telah mengisolasi dua diterpenoid *harziane* yaitu (9R,10R)-dihydro-harzianone dan harzianelactone (Gambar 3.9) diisolasi dari fungi endofit *Trichoderma* sp. Xy24 yang diidolasi dari daun, batang, dan kulit tanaman mangrove *Xylocarpus granatum* yang dikumpulkan dari distrik Sanya, provinsi Hainan, China.



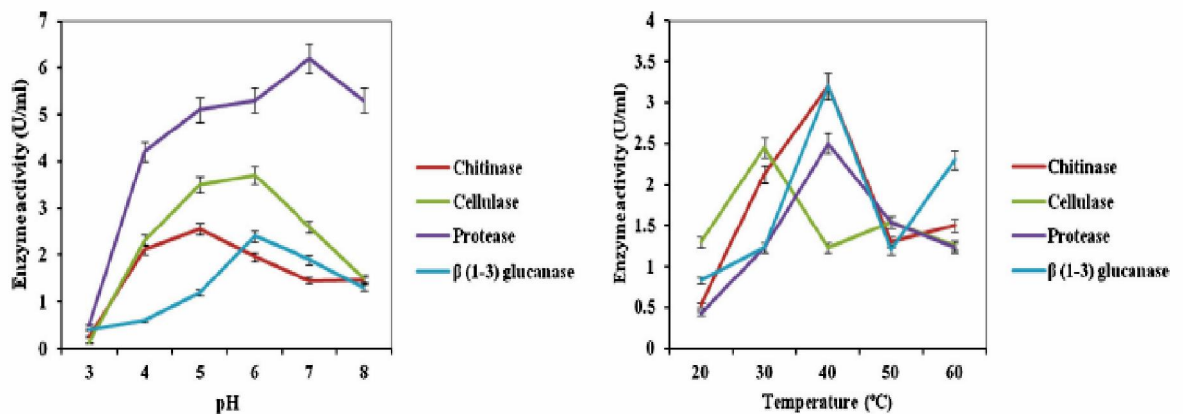
Gambar 3.9 Struktural harzianone, (9R,10R)-dihydro-harzianone (1) dan harzianelactone (2).

Secara *in vitro* terbukti bahwa *T. harzianum* menginduksi enzim antioksidan yang ditunjukkan dengan meningkatnya aktivitas askorbat peroksidase (APX), guaiacol peroksidase (GPX), superoksida dismutase (SOD) dan katalase (CAT) serta meningkatkan pertumbuhan tanaman kentang (Youssef *et al.*, 2016). Perkecambahan benih tomat meningkat 22-48% dan waktu yang diperlukan untuk proses perkecambahan dipercepat (-2,5 hari) bila diaplikasikan dengan *T. harzianum* dan *Pseudomonas fluorescent* (Srivastava *et al.*, 2010).

Kemampuan fungi *Trichoderma* Peran yang mendapat banyak perhatian para peneliti adalah menghasilkan senyawa ekstraselular yang dapat berperan sebagai hormon pertumbuhan bagi tanaman. *T. atroviride* dan *P. putida* ternyata menghasilkan indole acetic acid (IAA) yang disimulasi secara *in vitro* dengan penambahan l-tryptophan, tryptamine and tryptophol (200 µg ml<sup>-1</sup>) di dalam medium kultur; secara *in vivo* kedua fungi ini ternyata dapat meningkatkan bobot basah tunas dan akar bibit tomat yang ditumbuhkan dalam kondisi adanya penambahan konsentrasi l-tryptophan sampai 0.75 mM (Gravel *et al.*, 2007)

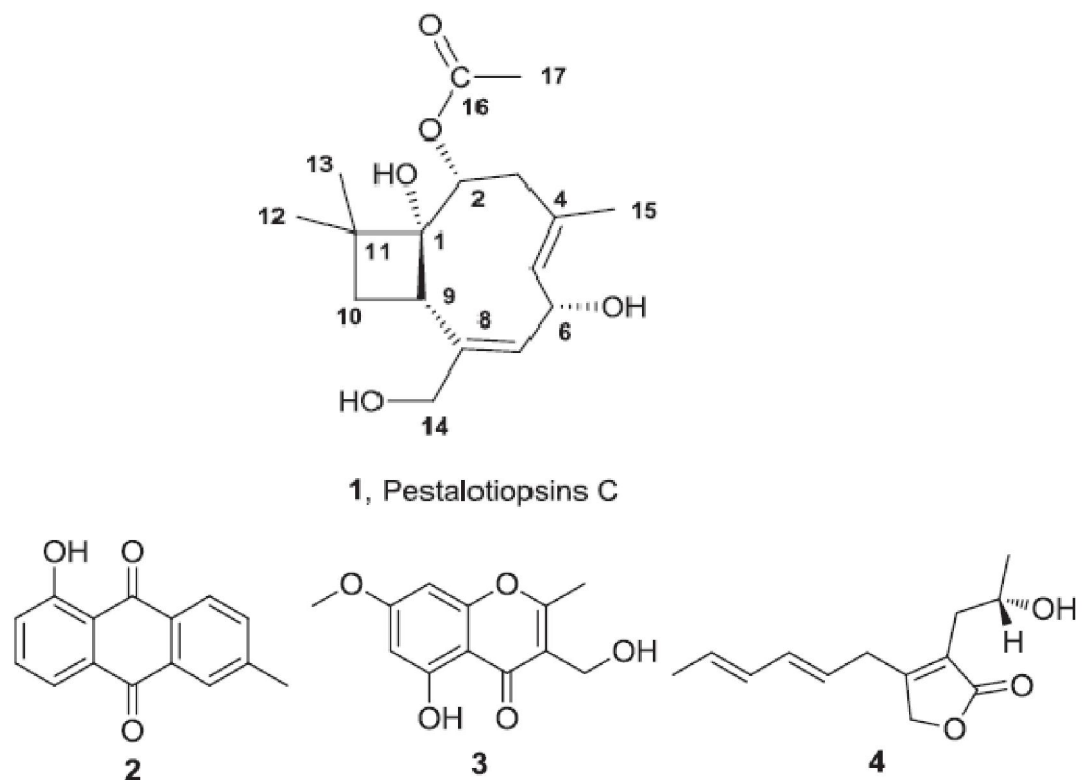
Aktivitas enzim pada makhluk hidup sangat dipengaruhi oleh suhu dan pH reaksinya. Hal yang sama juga berlaku pada aktivitas enzim *Trichoderma* yang bekerja secara ekstraselular seperti yang ditunjukkan Gambar 3.10. Saravanakumar *et al.* (2016) memperlihatkan perbedaan aktivitas enzim kitinase, selulase, protease, dan β(1-3) glukukanase dalam proses pendegradasian dinding sel tanaman pada pH dan suhu yang berbeda.





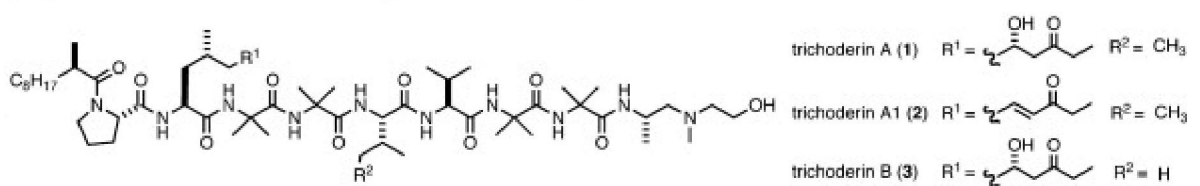
Gambar 3.10 Pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas enzim yang mendegradasi dingsing sel oleh *Trichoderma* (Saravanakumar *et al.*, 2016).

Hue *et al.* (2015) telah mendeskripsikan beberapa metabolit penting yang dihasilkan *Trichoderma* sp yaitu: (1) senyawa Pestalotiopsin C(1) atau (4E,7E) (1S,2S,6R,9R)-1,6-dihydroxy-8-(hydroxymethyl)- 4,11,11-trimethylbicyclo[7.2.0]undeca-4,7-dien-2-yl acetate. (2) senyawa 1-hydroxy-6-methyl-9,10-anthraquinone, (3) senyawa 5-hydroxy-3-hydroxymethyl-2-methyl-7-methoxychromone, dan (4) senyawa 4-((2E,4E)-hexa-2,4-dien-1-yl)-3-((S)-2-hydroxypropyl)-furan-2(5H)-one (Gambar 3.11).



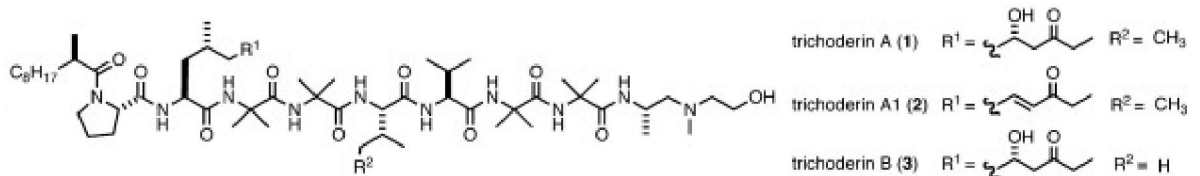
Gambar 3.11. Struktur senyawa yang dihasilkan isolat *Trichoderma* KK19L1 (Hui *et al.*, 2015)

Fungi *Trichoderma* juga menghasilkan toksin yang dapat menekan patogen termasuk bakteri yang dapat mengganggu tanaman. Oleh karenanya fungi ini berperan membantu memelihara kesehatan tanaman. Tiga aminolipopeptida dari trichoderins (Gambar 3.12) berhasil diisolasi dari *Trichoderma* sp. sebagai bahan anti dorman mikobakterial berpotensi sebagai anti mikobakterial terhadap *Mycobacterium smegmatis* dan *M bovis BCG*, dan *M tuberculosis* dengan kadar antara 0,02-0,0 µg/ml (Pruksakorna et al., 2010).



Gambar 3.12. Tiga aminolipopeptida dari trichoderin

Pruksakorna *et al.* (2010) telah mengisolasi senyawa aminolipopeptida yang dihasilkan dari kultur *Trichoderma* . yang dapat berperan sebagai anti-dormant terhadap mikobacteria (Gambar 3.13)



Gambar 3.13 Senyawa aminolipopeptida yang dihasilkan *Trichoderma*

Sebagai mikroba yang mampu memberikan sumbangan penyediaan bahanorganik sederhana yang pada akhirnya menyediakan nutrisi bagi tanaman, fungi ini juga menghasilkan berbagai enzim yang dapat mendegradasi bahan organik sisa panen bahkan mendegradasi propagul fungi patogen. Hu *et al* (2010) isolat *Trichoderma* sp. Tri-1 yang diisolasi dari rizosfer akar kanola (*Brassica napus* L., cv. Zhogsuang 9) dalam suatu plot percobaan pada Institut Riset Tanaman Minyak (Oil Crops Research Institute, Wuhan RRC) yang kemudian menjadi koleksi kulutr Lab Proteksi Tanaman tersebut memiliki kemampuan mendekomposisi jerami di samping menginfeksi sklerotia *S. Sclrtotiorum*.



#### **D. Peran dan Pemanfaatan Fungi *Trichoderma***

Peran Fungi *Trichoderma* dalam perpektif ilmu pertanian secara umum adalah melindungi perakaran tanaman dari gangguan patoen penyebab penyakit, menutrisi tanaman melalui persenyawaan hasil dekomposisi bahan organik tanah, dan menyediakan beberapa senyawa yang dapat diserap oleh tanaman sebagai zat perangsang tumbuh.

Kolonisasi akar oleh *Trichoderma* spp. juga sering meningkatkan pertumbuhan akar dan pengembangan, produktivitas tanaman, ketahanan terhadap cekaman abiotik dan penyerapan dan penggunaan zat gizi (Harman *et al.*, 2004).

Pemanfaatan peran *Trichoderma* sebagai biofertilizer sudah tentu akan dapat diintegrasikan dengan perannya sebagai agen biokontrol, sehingga akan membuat usaha tani menjadi lebih efisien. Sementara selain meningkatkan efisiensi penggunaan sumberdaya dan dana, pengintegrasian taktik pengendalian secara biologi dan pengurangan tingkat aplikasi fungisida merupakan suatu pendekatan untuk mempertahankan kelangsungan produksi tanaman sekaligus memperlambat perkembangan resistensi patogen terhadap fungisida (Glare *et al.*, 2012.)

Dengan bertitik tolak pada tujuan pemanfaatan *Trichoderma* sebagai agen biofertilizer dan sekaligus senbagai agen biokontrol, maka berbagai strategi budidaya tanaman dapat dikembangkan serta berbasis pada pemanfaatan sumberdaya yang dimiliki pelaksana budidaya tanaman di lapangan. Hu *et al.* (2016) mencoba menemukan strategi pengendalian *Sclerotinia sclerotiorum* yang berkelanjutan ada tanaman kanola (*oilseed rape*) yaitu dengan memanfaatkan *Trichoderma* sp. Tri-1 yang diformulasi dengan bungkil biji tanaman Kanola (*Brasica juncea*) dan jerami sekaligus untuk mengurangi penggunaan pestisida carbendazim denganh hasil seperti ditunjukkan pada Tabel 3.2. Sejauh ini Penyakit yang disebabkan oleh *Sclerotinia sclerotiorum* ini merupakan penyakit utama tanaman kanola di RRC yang mampu menurunkan hasil panen antara 10-80% dan menurunkan penggunaan fungisida yang selama ini merupakan metode utama pengendalian penyakit (Ma *et al.*, 2009 dan Guan, 2011).

Berdasarkan data Tabel 3.2. dapat disampaikan bahwa *Trichoderma* tidak saja mampu mengendalikan patogen dengan mencegah perkembangan penyakit secara signifikan, tetapi juga meningkatkan pertumbuhan tanaman yang pada akhirnya meningkatkan produksi tanaman dibandingkan dengan tanpa *Trichoderma* dan hanya

aplikasi karbendazim saja pada tanaman kanola yang terserang *Sclerotinia sclerotiorum*. Pada percobaan ini tampak bahwa kombinasi *Trichoderma* dengan aplikasi carbendazim. Diduga gabungan pengaruh dua faktor ini meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman secara keseluruhan; *Trichoderma* berperan meningkatkan pertumbuhan tanaman, sementara itu carbendazim menekan patogen yang berpotensi menurunkan produksi. Dalam hal ini *Trichoderma* mungkin kurang efektif sebagai agen biokontrol.

Tabel 3.2. Dampak formula *Trichoderma* sp. Tri-1, bahanpanen kimia pestisida, dan kombinasinya terhadap kejadian penyakit dan hasil panen kanola dalam percobaan lapangan dengan rotasi tanam kedele-kanola (Hua *et al.*, 2016)

Perlakuan	Rerata kejadian penyakit	Rerata panen (kg) per 240 tanaman
Kontrol (tanpa <i>Trichoderma</i> dan pestisida)	29,15 a	2,61 b
Carbendazim 100%	12,13 d	2,96 ab
Carbendazim 70%	19,86 b	2,72 ab
Carbendazim 50%	27,05 a	2,55 ab
<i>Trichoderma</i>	20,32 b	2,78 ab
<i>Trichoderma</i> -Carbendazim 100%	10,51 d	3,07 a
<i>Trichoderma</i> -Carbendazim 70%	13,89 cd	2,89 ab
<i>Trichoderma</i> -Carbendazim 50%	17,45 bc	2,68 ab
LSD 5%	4,74	0,42

Keterangan: pestisida carbendazim diaplikasikan pada tingkat 100%, 75%, or 50% dari rekomendasi; Tri-1 adalah formulasi yang mengandung *Trichoderma* sp. Tri-1 yang diberikan ke tanah sebelum penaburan benih kanola; Percobaan diulang pada tahun yang sama di lokasi yang berbeda. Rerata yang diikuti huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P \leq 0.05$ ).

## BAB 4

### FUNGI MIKORIZA

#### A. Biologi dan Pengelompokannya

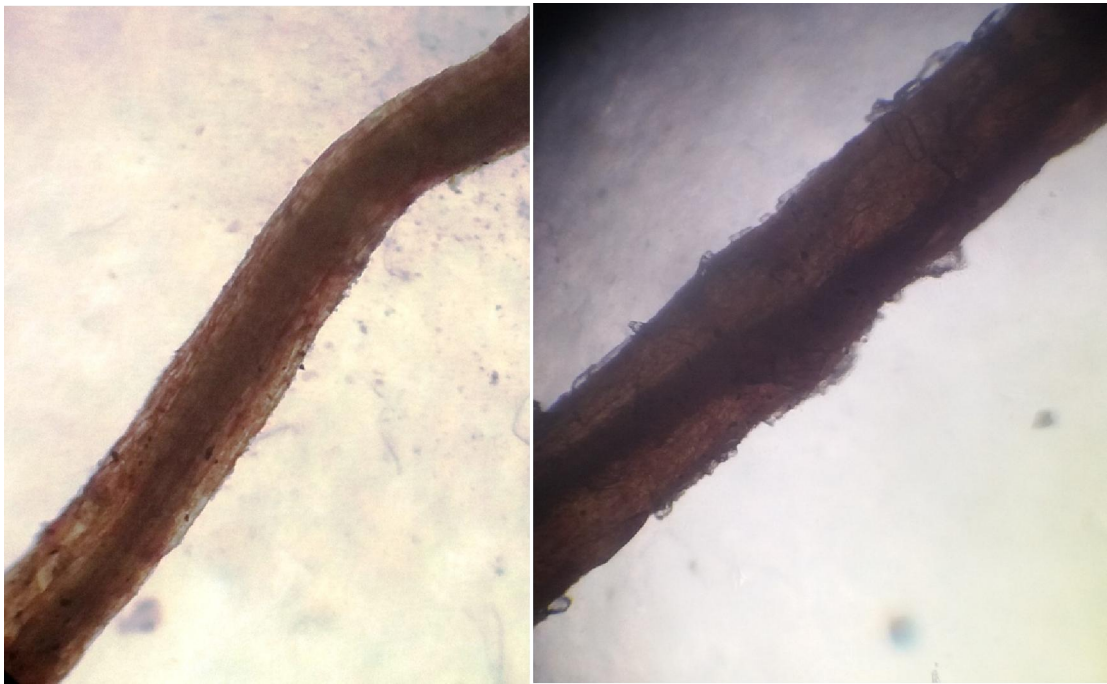
Berdasarkan karakteristik infeksi fungi mikroiza pada perakaran, para ahli mengkalsifikasikan bentuk simbiosis antara fungi mikoriza ini dengan perakaran tanaman menjadi: (i) ektomikoriza yang menunjukkan bahwa fungi menyelubungi bagian luar akar, tidak menginfeksi sel tapi masuk di ruang antar ruang antarsel, (ii) endomikoriza atau dikenal juga sebagai mikoriza arbuskula, yang menunjukkan fungi menginfeksi hingga ke bagian dalam sel akar, dan (iii) ericoid mikriza yaitu fungi mikoriza yang berasosiasi dengan tanaman anggrek atau tanaman semak. Secara umum berbagai karakteristik khas di mana ketiga kelompok utama mikoriza tersebut dapat ditemukan atau berhabitat diprsentasikan oleh Paul dan Clark (1995) seperti tertera pada Tabel 4.1.

Beberapa temuan dari survey yang dilakukan terhadap 659 makalah yang sebagian besar diterbitkan sejak 1987 terkait kejadian mikoriza yang melibatkan 3.617 spesies dan 263 keluarga tanaman darat telah memberikan pemahaman tentang peran mikoriza sebagai berikut: (i) Sekitar 80% spesies dan 92% keluarga tanaman darat bermikoriza, (ii) mikoriza arbuskular (AM) adalah jenis dominan dan merupakan leluhur dari mikoriza pada tanaman darat, (iii) pembentukan ektomikorisa (ECM) dan jenis turunannya secara independen sebagi hasil proses evolusi paralel berkali-kali dari AM, dan koevolusi antara tanaman dan fungi diduga berkontribusi bagi diversifikasi di antara tanaman inang dan simbionnya, dan (iv) *mycoheterotrophy* dan hilangnya hubungan simbiosis mikoriza terjadi karena evolusi berkali-kali secara independen melalui evolusi paralel (Wang dan Qiu, 2006).

Tabel 4.1. Karakteristik tanah-tanaman-fungi mikoriza ericoid, ektomikoriza, dan endomikoriza (Paul &amp; Clark, 1995)

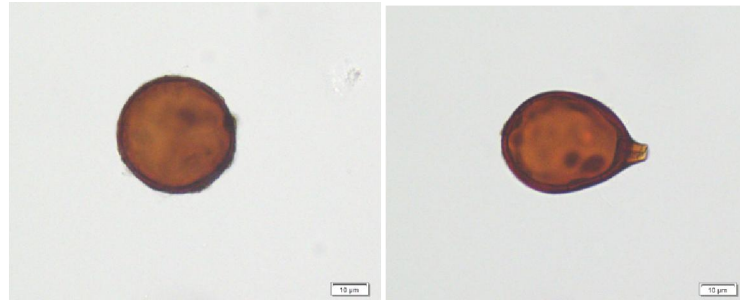
Karakertistik	Mikoriza Ericoid	Ektomikoriza	Mikoriza Arbuskula
Karakteristik tanah			
pH	3,5-4,2	4,2-5,4	>4,5
Ketersediaan nutrisi	N dan P organik, tanah tercuci	Mineral N dan P lapisan sampah (humus)	N sangat rendah dan ketersediaan P rendah, humus tipis di permukaan
Akar	Hifar yang keluar dari akar berjarak pendek untuk mencapai permukaan humus	Akar ektensif dengan bulu-bulu akar yang mengalami perubahan bentuk	Efek adanya infeksi pada akar tidak nampak, akar berasosiasi dengan mineral tanah
Karakteristik tanaman			
Tipe tanaman	Semak kerdil dengan perakaran ekstensif, <i>Calluna</i> , <i>Larix</i> , <i>Vaccinium</i>	Hutan tropis hingga temperat; <i>Betula</i> , <i>Pinus-Picea</i> , <i>Fagus-Quercus</i> , Dipterocarpaceae, Leguminaceae	Rerumputan, tanaman pertanian, <i>Ulmus</i> , <i>Acer</i> , <i>Fraxinus</i> , Leguminaceae
Karakteristik fungi			
Hifa	Bersekat, dekat dengan akar, masuk kedalam sel	Ekstensif ada yang bersekat ada juga tidak bersekat, tidak masuk ke dalam sel tapi membentuk mantel	Ekstensif tidak bersekat, masuk ke dalam sel, membentuk vesikel dan arbuskula.
Fisiologi	Memiliki enzim protease, polifenoloksidase, mendegradasi bahan humus	Mndegradasi protein, menyimpan nutrisi di dalam mantel, melindungi akar terhadap infeksi patogen	Menyerap nutrisi, berinteraksi dengan organisme tanah
Klasifikasi	Klas Ascomycetes (kadang Basidiomycetes)	Ascomycetes, Basidiomycetes, Zygomycetes	Glomales

Jika pada endomikoriza tidak dijumpai adanya perubahan bentuk pada akar dan hampir tidak ada bedanya dengan tanpa infeksi mikoriza, kecuali adanya hifa eksternal yang nampak keluar dari jaringan akar, kolonisasi fungi ektomikoriza di rambut akar akan menimbulkan perubahan bentuk dan tampak kasar karena adanya struktur mantel yang melingkupi akar. Perbedaan yang menunjukkan adanya perubahan bentuk jika dibandingkan tanpa infeksi fungi ektomikoriza dapat dilihat pada Gambar 4.1 pada rambut akar bibit cengkeh.



Gambar 4.1 Penampilan akar bibit cengkeh tanpa mikoriza (kiri) dan terinfeksi fungi ektomikoriza (kanan) (foto: koleksi Nindya dan Sutarman)

Fungi ektomikoriza menggunakan spora untuk memulai siklus hidupnya. Sebagaimana fungi dari klas Ascomycetes, Basidiomycetes, dan Zygomycetes, spora dan hifa segarnya dapat dibiakkan pada media buatan, akan tetapi fungi endomikoriza yang didominasi klas Glomales tidak dapat dibiakkan pada media buatan tapi membutuhkan media hidup atau sel inang sebagai sarana untuk pertukaran nutrisi antara fungi dan sel akar tanaman. Spora fungi ektomikoriza berukuran relatif sama dengan fungi patogen yaitu kurang dari 10  $\mu\text{m}$ , sementara itu spora fungi endomikoriza rata-rata berukuran di atas 100  $\mu\text{m}$  yaitu 149  $\mu\text{m}$  (*Glomus coronatum*) dan 141  $\mu\text{m}$  (*Glomus* sp) (Gambar 4.2)



Gambar 4.2 Spora fungi endomikoriza *Glomus coronatum* (kiri) dan *Glomus sp.* (kanan) (foto: koleksi Sutarman).

Pengelompokkan mikroiza yang didasarkan pada pertimbangan morfologi saat ini sudah bergeser pada pemanfaatan marka molekular. Alguacil *et al.* (2014) telah melakukan identifikasi fungi mikoriza arbuskula melalui serangkaian kegiatan yang dimulai dari ekstraksi DNA yang diperoleh dari sampel tanah, yang dilanjutkan dengan amplifikasi subunit kecil (SSU) rRNA dengan perangkat PCR, kloning, sekuensing, dan analisis filogenetik. Dari tiga puluh lima *phylotypes* fungi arbuskula yang berbeda di suatu agroekosistem mediterania diidentifikasi, kemudian dikelompokkan dalam lima keluarga yaitu: Glomeraceae, Paraglomeraceae, Diversisporaceae, Ambisporaceae, dan Claroideoglomeraceae.

Berdasarkan kajian terhadap praktek manajemen pertanian yang berbeda diketahui bahwa keragaman fungi mikoriza arbuskula berkorelasi positif dengan parameter tanah yang terkait dengan aktivitas biologis; perlakuan yang melibatkan membajak tanah sangat mengubah komposisi komunitas FMA tetapi tidak mempengaruhi secara signifikan keragaman dan kelimpahan FMA, namun penambahan herbisida mengakibatkan penurunan keragaman FMA; penambahan jerami gandum tampaknya menjadi strategi manajemen yang paling-cocok sehubungan upaya untuk meningkatkan keanekaragaman FMA dan aktivitas biologis tanah (Alguacil *et al.*, 2014).

## **B. Bioekologi Fungi Mikoriza**

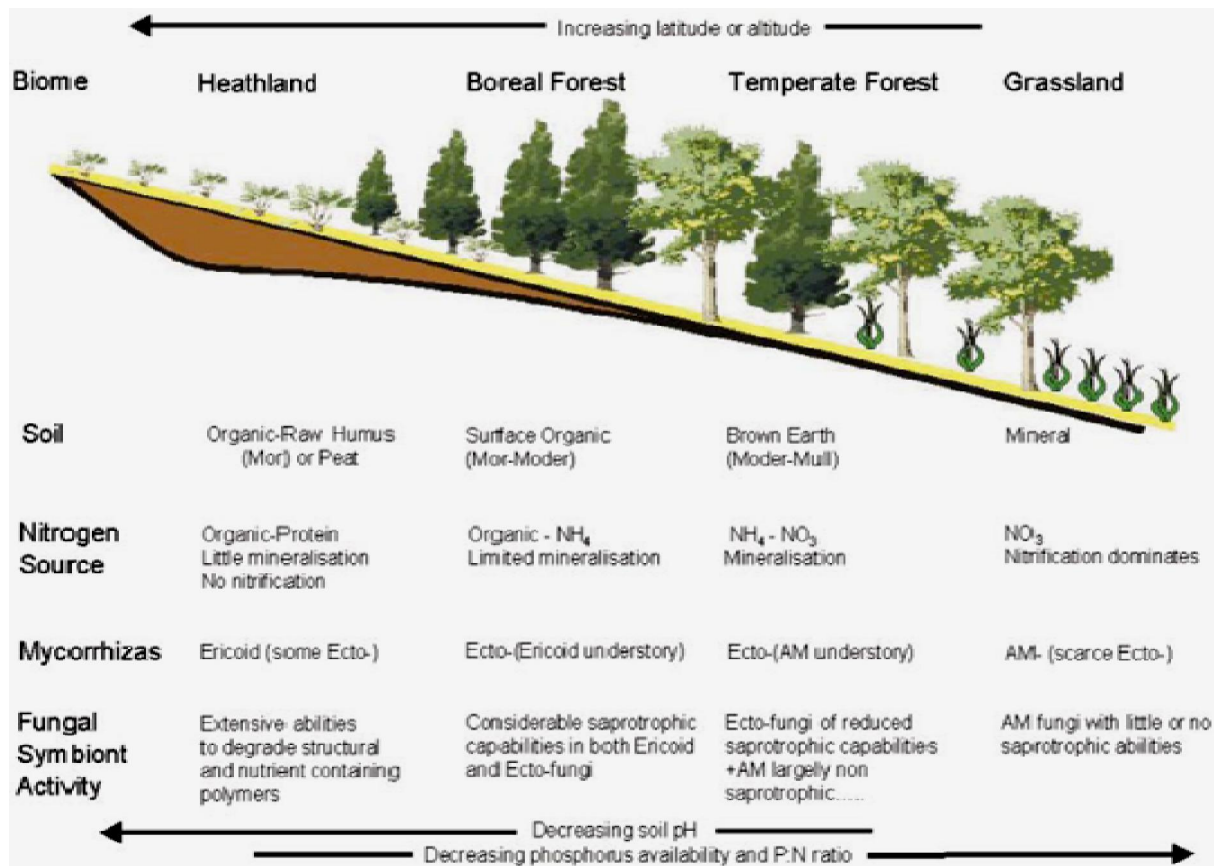
Fungi mikoriza arbuskula (FMA) dapat mempengaruhi keanekaragaman tanaman dan produktivitas ekosistem. Berbagai penelitian aplikasi FAM pada berbagai agroekosistem telah memberikan hasil yang menunjukkan peran fungi ini dalam meningkatkan efisiensi budidaya tanaman. Penelitian yang dilakukan van der Heijden *et*

*al.* (2006) memperlihatkan FMA memainkan peran kunci dalam padang rumput dengan meningkatkan nutrisi tanaman dan memperbaiki struktur tanah.

Fungi tanah secara umum berperan dalam menentukan siklus karbon di pertanaman maupun pada kawasan hutan. Sementara itu hutan memainkan peran penting dalam siklus karbon global, yang dianggap sebagai penyerap karbon yang penting dan berkelanjutan. Dalam hal ini diketahui bahwa mikroba tanah berperan dalam suplai CO<sub>2</sub> tanah. Selama musim gugur komponen sumber penyuplai dalam aliran CO<sub>2</sub> tanah adalah organisme heterotrof tanah dengan kontribusi hingga 60%, hifa ektomikoriza (EM) 25%, dan akar 15 % (Heinemeyer *et al.*, 2007). Lebih lanjut dikemukakan bahwa respirasi hifa EM sangat berpengaruh dalam mengurangi kelembaban tanah dan sangat tergantung pada pasokan asimilat dari tanaman namun tidak bertanggung-jawab langsung terhadap perubahan suhu tanah. Pada penelitian berbeda menunjukkan bahwa respirasi hifa mikoriza arbuskula memberikan bagian yang signifikan dalam respirasi akar barley yaitu sebesar 25 % dan berkontribusi dalam total asimilasi karbon sebesar 4,8 % (Moyano *et al.*, 2007).

Read dan Perez-Moreno (2003) mendeskripsikan hubungan *altitude* dan *latitude* mulai dari padang rumput hingga daerah pedalaman dengan aktivitas simbiosis fungi yang melibatkan perubahan-perubahan reaksi kimia dan ketersediaan N-P tanah (Gambar 4.3). Makin meningkat ketinggian tempat dan lintang di belahan utara bumi, maka pH tanah makin menurun dan ketersediaan serta rasio P/N makin menurun. Sumber nitrogen pada padang rumput didominasi oleh nitrifikasi NO<sub>3</sub>; sedang pada hutan beriklim (*temperate forest*), hutan boreal (*boreal forest*), dan daerah pedalaman (*heathland*) masing-masing mineralisasi NH<sub>4</sub>-NO<sub>3</sub>, mineralisasi terbatas NH<sub>4</sub>-organik, dan tanpa nitrifikasi dengan sedikit mineralisasi sedikit protein-organik. Adapun mikoriza mulai dari padang rumput, hutan *temperate*, hutan boreal, hingga *heathland* masing-masing adalah mikoriza arbuskula (ektomikoriza langka), ektomikoriza (cukup banyak mikoriza arbuskula), ektomikoriza (*ericoid* cukup banyak), *ericoid* (kadang-kadang ektomikotiza). Untuk aktivitas simbiosis fungi berturut-turut yaitu: (i) pada padang rumput didominasi oleh fungi mikoriza arbuskula dengan sedikit atau tidak memiliki saprotropik, (ii) pada hutan *temperate* yaitu didominasi fungi ektomikoriza yang kemampuan saprotropiknya teredeksi dan adanya mikoriza arbuskula non saprotropik yang meluas ditemukan, (iii) pada hutan boreal yang fungi mikroizanya memiliki kemampuan saprotropik baik sebagai *ericoid* maupun

ektomikoriza, dan (iv) pada *heathland* didominasi oleh fungi ericoid yang memiliki kemampuan mendegradasi secara struktursl polimer nutrisi.



Gambar 4.3. Hubungan antara distribusi bioma sepanjang gradien lingkungan di lintang utara bumi dan peran asosiasi mikoriza dalam pengambilan N dan P (Read dan Perez-Moreno, 2003).

Studi yang telah dilakukan pada hutan tropis pegunungan dengan gradien elevasi antara 1000-3000 m dpl menunjukkan bahwa pertumbuhan panjang akar dan kelimpahan fungi mikoriza arbuskula (FMA) tergantung pada ketersediaan hara tanah dan/atau karakteristik tanah (Tessa Camenzind *et al.*, 2016). Informasi lain yaitu mengenai nitrifikasi bersih yang terbesar terjadi pada situs di ketinggian 1.000-m dpl dan tidak dipengaruhi oleh penambahan nutrisi, sementara itu nitrifikasi bersih yang tidak terdeteksi pada ketinggian 2.000 dan 3000-m dpl tapi terdeteksi pada tahun kedua; berkaitan dengan itu, status N awal tanah dapat dipengaruhi oleh ada atau tidak adanya lapisan organik, kelembaban tanah dan suhu yang merupakan representasi gradien elevasi (Martinson *et al.*, 2013)



### C. Fisiologi Fungi Mikoriza

Kemampuan mendifusikan ion  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ , dan  $\text{PO}_4^{3-}$  oleh fungi mikoriza arbuskula masing-masing sebesar  $10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ det}^{-1}$ ,  $10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ det}^{-1}$ , dan  $10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ det}^{-1}$ ; sementara itu pada lahan kering dengan tingkat difusi P 10 sampai 100 kali lebih rendah dibandingkan lahan basah, pengambilan P oleh tanaman tanpa mikoriza tidak mungkin bisa dilakukan Paul & Clark (1995). Lebih lanjut disampaikan bahwa asosiasi dengan ektomikoriza akan menimbulkan perubahan fisik akar terutama terbentuknya mantel yang dapat melindungi akar dari serangan fungi patogen seperti *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, dan nematode.

Pada tanah-tanah bermasalah misalnya yang memiliki pH yang rendah dan tingkat Al dan Mn yang membutuhkan tinggi input pupuk dan pemberian bahan organik sudah tentu akan meningkatkan biaya produksi tanaman. Inokulasi fungi mikoriza arbuskula merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan efisiensi biaya produksi tanaman. Kerja fisiologi fungi akan meningkatkan efisiensi penggunaan sumberdaya berupa pupuk kimia dan membantu meningkatkan kinerja pertumbuhan tanaman yang diwujudkan dalam peningkatan tinggi tanaman, bobot kering pucuk dan akar, rasio pucuk:akar. Inokulasi fungi mikoriza *Glomus. etunicatum* dan *S. pelusida* juga secara signifikan mengubah konsentrasi unsur-unsur P, Zn, Cu, Ca, S, Na, N, K, Fe dan Al dalam jaringan, dengan demikian tampak nyata bahwa fungi ini efektif mempromosikan pertumbuhan tanaman dan serapan hara (Cavallazzi *et al.*, 2007).

Penggunaan  $^{13}\text{C}$  sebagai penanda translokasi C pada tanaman yang melibatkan kerja fungi mikoriza menunjukkan bahwa rata-rata 10% C dialokasikan ke organ di bawah tanah yaitu akar dan hifa mikoriza, sedangkan 4,3% dialokasikan untuk hifa mikoriza dalam 24 jam setelah pelepasan C pada tanaman; sementara itu dengan menggunakan label nitrogen anorganik diketahui bahwa 23% N yang diserap dipertahankan di miselium fungi (Tomè *et al.*, 2015). Hasil penelitian juga menunjukkan adanya korelasi positif antara tingkat fotosintesis tanaman dan kapasitas penyerapan hifa.

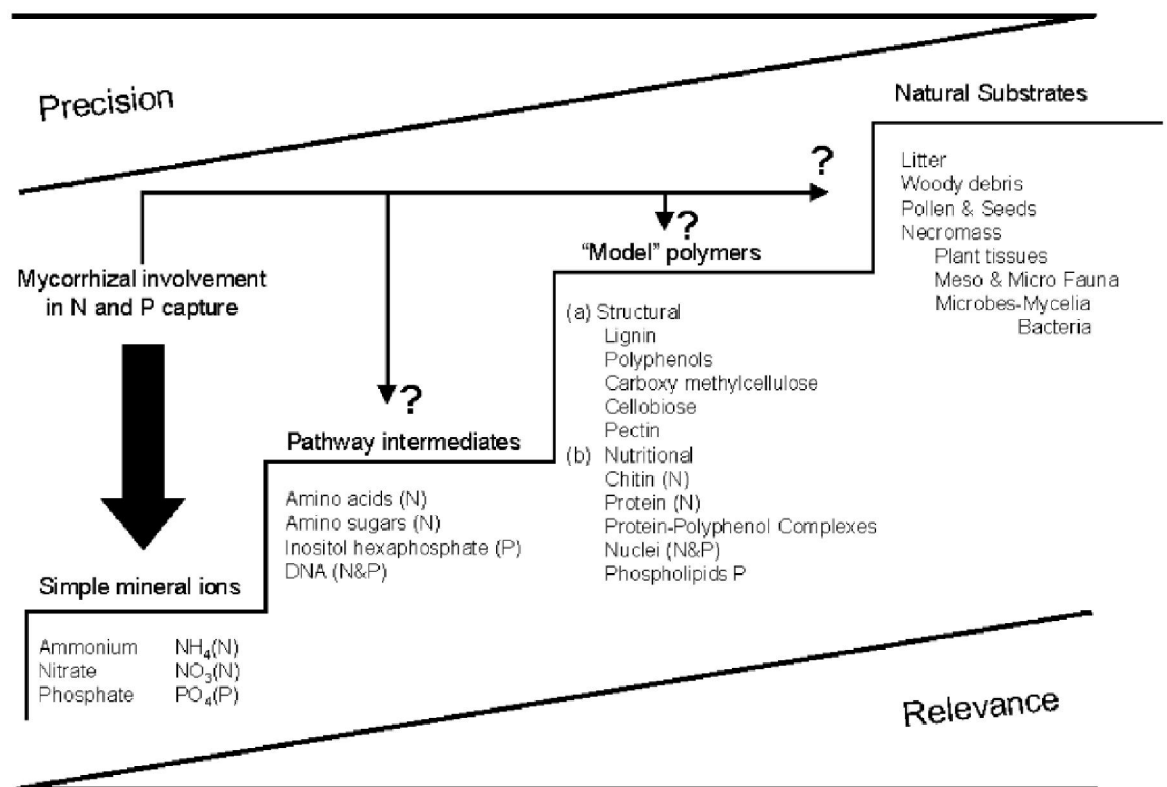
Fungi mikoriza juga memiliki kemampuan untuk mendegradasi bahan organik. Read dan Perez-Moreno (2003) menyebutkan berbagai enzim yang dihasilkan oleh fungi mikoriza ericoid yang dapat digunakan mulai untuk mendegradasi dinding sel tanaman, oksidasi asam fenolik dan tanin, hidrolisis lignin (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Enzim ekstra seluler yang diproduksi oleh fungi mikoriza erocoid, yang diperkirakan akan memberikan kemampuan fungi untuk mendegradasi komponen struktural bahan organik atau sisa tanaman sehingga berkontribusi untuk proses dekomposisi dan penyediaan nutrisi P (Read dan Perez-Moreno, 2003).

Plant Cell Wall degradation	Pectin Cellulose Cellobiose	Polygalacturonase Cellulase Cellobiohydrolase
	Hemicellulose	Xylanase $\beta$ Xylosidase $\beta$ D-mannosidase $\beta$ D-galactosidase $\beta$ L-arabinosidase $\beta$ 1;3 glucanase
Oxidation of Phenolic Acids and Tannins	Polyphenols	Polyphenol oxidase Laccase Catechol oxidase
Hydrolysis of Lignin	Lignin	Lignase

Read dan Perez-Morenos (2003) juga mempromosikan suatu model keterlibatan fungi mikoriza dalam pengambilan N dan P (Gambar 4.4). Dengan berbagai enzim yang dapat dihasilkan mikoriza, maka peluang pendegradasian sisa tanaman, sampah organik, biji, jaringan tanaman, jasad meso dan mikro fauna, serta jasad miselia dan bakteri di dalam tanah cukup signifikan. Sejauh mana ini dapat berjalan tentunya memerlukan penelitian yang mendalam. Jika diuraikan pada level persenyawaan bahan organik Berbagai di bawahnya yaitu dalam bentuk makromolekul struktural seperti lignin, polifenol, selulosa, dan pekin serta makromolekul nutrisi seperti kitin, protein, kompleks polifenol-protein, dan fosfolipid, maka makin tampak bahwa potensi pendegradasiian bahan organik itu oleh mikoriza makin jelas terlihat. Pengujian dekomposisi makromolekul oleh fungi mikoriza juga memerlukan penelitian lebih lanjut. Adapun terhadap bahan intermedit seperti asam amino, gula amino, heksafosfat inositol, dan DNA perlu pengujian kemampuan fungi mikoriza

dalam mendegradasinya. Pada akhirnya sesungguhnya peran fungi mikoriza adalah dalam pengambilan N dan P dalam bentuk amonium ( $\text{NH}_4$ ), nitrat ( $\text{NO}_3$ ), dan fosfat ( $\text{PO}_4$ ) ini yang diharapkan akan menjadi titik kritis dalam meninjau sejauh mana fungi mikoriza menyumbangkan nutrisi N dan P bagi tanaman simbiotnya.



Gambar 4.4. Model keterlibatan mikorizaa dalam pengambilan N dan P (Read, D., Perez-Moreno, J., 2003)

Secara fisiologi peran mikoriza sesungguhnya bukan hanya berkontribusi mensuplai N dan P, tetapi juga berbagai nutrisi lain yang disalurkan oleh hifa fungi dari mikro- dan mesopori tanah yang tidak terjangkau oleh bulu akar. Namun demikian secara kuantitatif suplai nutrisi oleh fungi mikoriza tidak halus sama tergantung lingkungannya. Seacara latitude dan altitude terdapat perbedaan baik sumber N, mineral dan bahan organik, jenis mikoriza, serta aktivitas fungi simbiotnya. Martison et al. (2013 dalam Camenzind *et al.*, 2016) dari hasil penelitiannya diketahui bahwa perbedaan ketinggian tempat ternyata menunjukkan perbedaan berbagai parameter tanah (Tabel 4.3).

Tabel 4.3 Karakteristik tanah dari lokasi penelitian di seluruh gradien elevasi yang diamati. Kandungan nutrisi dinyatakan sebagai tanah mg cm<sup>-3</sup>, berarti  $\pm$  standard error. Nilai ditandai dengan huruf tebal yang berbeda secara signifikan berbeda antara situs (satu-faktor ANOVA;  $P < 0,05$ ).

Soil parameter	1000 m	2000 m	3000 m
Thickness organic layer (cm) <sup>a</sup>	–	10–30	10–40
Bulk density (g/cm <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>	0.91 $\pm$ 0.06	0.18 $\pm$ 0.05	0.11 $\pm$ 0.01
pH	4.42 <b>a</b>	3.57 <b>b</b>	3.47 <b>c</b>
N	2.86 $\pm$ 0.44 <b>a</b>	3.13 $\pm$ 0.11 <b>a</b>	1.77 $\pm$ 0.14 <b>b</b>
C	41.5 $\pm$ 5.4 <b>b</b>	74.5 $\pm$ 1.2 <b>a</b>	49.5 $\pm$ 2.9 <b>b</b>
C/N	14.8 $\pm$ 0.6 <b>c</b>	23.9 $\pm$ 0.7 <b>b</b>	28.3 $\pm$ 1.8 <b>a</b>
P	0.165 $\pm$ 0.023 <b>a</b>	0.088 $\pm$ 0.006 <b>b</b>	0.055 $\pm$ 0.007 <b>c</b>
Ca	0.387 $\pm$ 0.030 <b>a</b>	0.108 $\pm$ 0.004 <b>b</b>	0.146 $\pm$ 0.028 <b>b</b>
Fe	12.13 $\pm$ 2.16 <b>a</b>	0.21 $\pm$ 0.03 <b>b</b>	0.11 $\pm$ 0.02 <b>c</b>
Al	40.38 $\pm$ 4.88 <b>a</b>	0.82 $\pm$ 0.09 <b>b</b>	0.44 $\pm$ 0.05 <b>c</b>
K	2.31 $\pm$ 0.38 <b>b</b>	0.28 $\pm$ 0.03 <b>b</b>	0.17 $\pm$ 0.03 <b>c</b>
Mg	0.93 $\pm$ 0.45 <b>a</b>	0.12 $\pm$ 0.03 <b>b</b>	0.09 $\pm$ 0.02 <b>b</b>

(Data dari Martinson et al., 2013 dalam Tessa Camenzind et al., 2016)

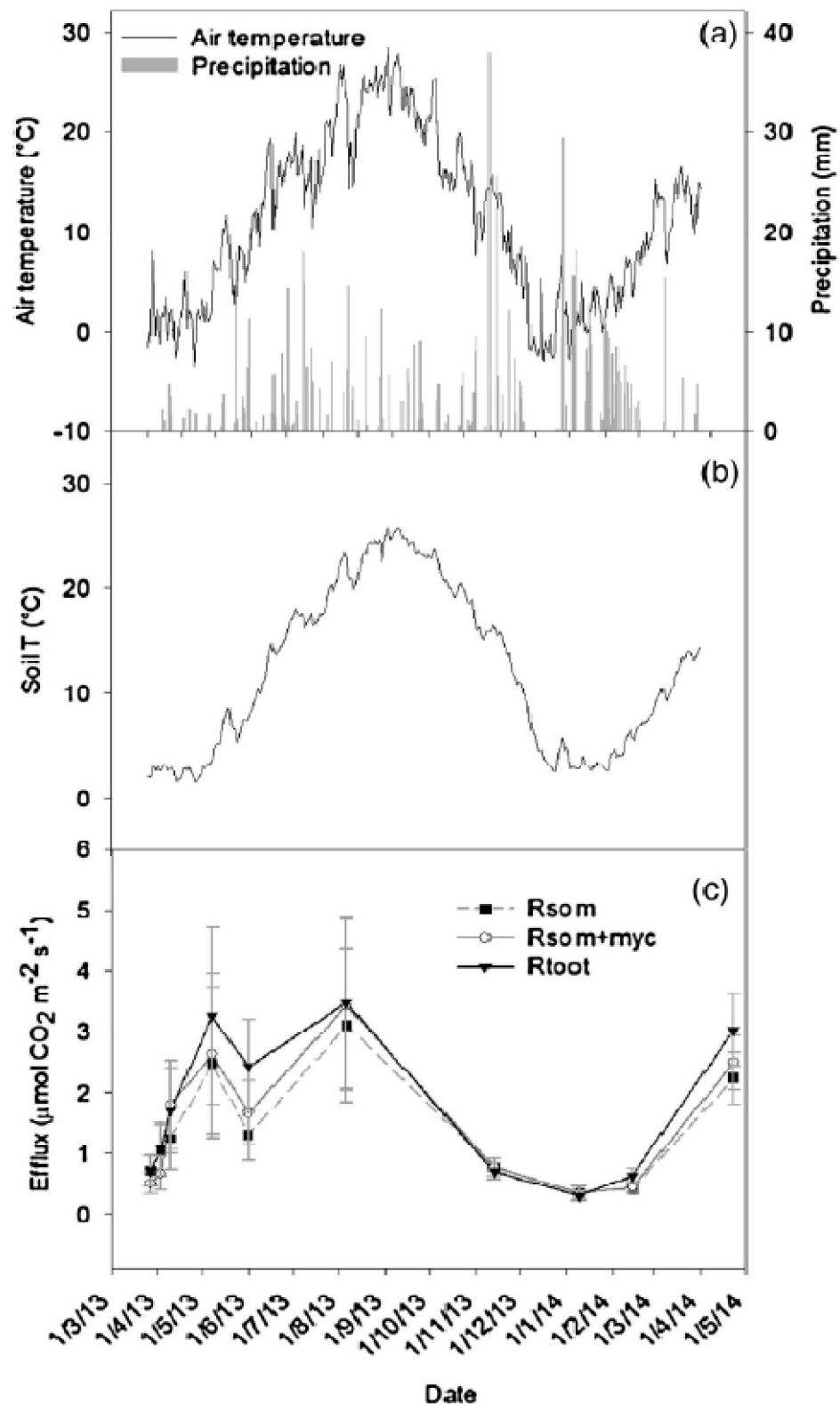
Percobaan lapang dilakukan pada agroekosistem semi-kering Mediterania untuk menilai pengaruh praktek pengelolaan yang berbeda terhadap komposisi dan keragaman fungi mikoriza arbuskula (FMA) di dalam tanah. Pada percobaan yang dilakukan di Mu Kami Sandland, barat laut China, dari tanah rhizosfer kedalaman 50 cm tanaman *Astragalus adsurgens* Pall diketahui bahwa *A. adsurgens* Pall. bisa membentuk hubungan simbiosis yang kuat dengan FMA serta kepadatan spora secara signifikan dan berkorelasi positif dengan karbon organik tanah (SOC), asam fosfatase tanah, dan fraksi dua macam protein *Bradford-reaktive* tanah (glomalin) (Bai *et al.*, 2009). Lebih lanjut disampaikan beberapa kesimpulan yaitu: (i) kolonisasi arbuscules dan vesikula berkorelasi positif dengan aktivitas protease, (ii) fraksi protein tanah dimaksud juga juga secara signifikan dan berkorelasi positif dengan faktor edafis yaitu karbon organik tanah, nitrogen tersedia, dan fosfor serta enzim tanah (misalnya urease dan asam fosfatase), (iii) tingkat kandungan glomalin di tanah gurun yang sedikit lebih rendah daripada yang di tanah asli dan subur, namun rasio protein terhadap karbon organik tanah jauh lebih tinggi dari tanah lahan pertanian. Glomalin diduga merupakan parameter biokimia yang berguna untuk penilaian kesuburan tanah biologis dalam pertanian berkelanjutan (Bedini *et al.*, 2007). Persentase kolonisasi fungi mikoriza pada akar jagung dan kandungan glomalin lebih tinggi pada lahan yang dikelola secara organik dan akan meningkat sejalan dengan waktu transisi menuju sistem pertanian organik; selain itu peningkatan kadar glomalin dalam sistem pertanian organik yang subur berkorelasi kuat dengan jumlah inokulum potensial fungi mikoriza di

dalam tanah (Bedini *et al.*, 2013). Pada percobaan *in vitro* yang dilakukan Driver *et al.* (2005) diketahui bahwa sekitar 80% glomalin yang dihasilkan oleh fungi berada dalam hifa dan spora dibandingkan dengan yang dilepaskan ke dalam medium kultur; lebih lanjut dinyatakan bahwa bahwa glomalin yang terkandung di tanah dilepas dari hifa dan bukan melalui sekresi, juga perlu didalami kajian tentang kontribusi protein dalam kehidupan miselium fungi mikoriza.

Fungi mikoriza arbuskula (FMA) adalah simbiosis obligat pada kebanyakan tanaman. Selain menjadi komponen utama dari biomassa mikroba tanah, hifa FMA menghasilkan glomalin yaitu senyawa *glycoproteinaceous* yang sangat berkorelasi dengan stabilitas air agregat tanah; Glomalin, diukur dengan uji protein Bradford (Steinberg dan Rillig, 2003)

Pada kebun apel, respirasi tanah disumbang oleh respirasi mikoriza sebesar 11,6%, sumbangan respirasi akar 12,4%, sedangkan respirasi bahan organik tanah sebesar 73,3% dari  $R_{soil}$ . Di rhizosfer apel, respirasi bahan organik tanah (SOM) dan mikoriza meningkat secara signifikan pada akhir musim panas dan musim gugur, mungkin karena efek *priming* akar dari degradasi SOM atau stimulasi respirasi mikoriza (Tomè *et al.*, 2016).

Hasil penelitian Van Geel *et al.* (2015) menunjukkan bahwa karakteristik tanah dan sistem pertanian serta lokasi geografis lahan kebun akan menentukan bentuk komunitas FMA di rhizosfer pohon apel. Dari penelitiannya juga dapat disimpulkan bahwa keanekaragaman FMA secara signifikan lebih tinggi di kebun yang dikelola secara organik dibandingkan dengan kebun yang dikelola secara konvensional serta kombinasi manajemen kebun organik yang baik dan pemupukan moderat dapat melestarikan komunitas FMA yang beragam di perakaran pohon apel. Sementara itu penelitian lain menunjukkan adanya korelasi positif yang erat antara kelimpahan hifa FMA dengan agregasi tanah dan penyerapan C dan N (Wilson *et al.*, 2009). Dengan demikian adanya perubahan dan gangguan pada sistem tanah akan berpeluang hilangnya FMA dari ekosistem.



Gambar 4.5. Suhu harian Rerata suhu udara harian pada 20 cm dan curah hujan (a); rerata suhu tanah harian ( $^{\circ}\text{C}$ ) pada kedalaman 5 cm (b); rerata harian fluks  $\text{CO}_2$  tanah diukur selama periode percobaan (diukur tiap tiga jam, mulai pukul 08:00) (c) ; garis vertikal merupakan simpangan baku nilai rerata.

#### D. Peran dan Pemanfaatan Fungi Mikoriza

Fungi mikoriza meningkatkan ketersediaan fosfor bagi tanaman melalui hifa extraradicalnya yang menyerap nutrisi di luar zona deplesi akar (François *et al.*, 2016). Meskipun demikian fungi mikoriza arbuskula (FMA) tidak meningkatkan produktivitas total tanaman (Van Der Heijden *et al.*, 2006). Lebih lanjut dikemukakan peran FMA, yaitu: meningkatkan akuisisi nitrogen oleh beberapa spesies tanaman, meningkatkan biomassa tanaman meskipun sangat tergantung pada musim, meningkatkan status nutrisi dan memperbaiki struktur tanah padang rumput.

Sebagain besar tanaman darat memiliki sistem simbiosis dengan mikoriza pada perakarannya yang akan membantu tanaman dalam penyerapan nutrisi di samping penyerapan nutrisi langsung melalui epidermis akar dan akar rambut. Nutrisi yang diserap hifa akan ditranslokasikan ke dalam sel kortikal akar, di mana arbuscules atau kumpulan hifa menyediakan *interface* simbiosis atau sarana penghubung sistem translokasi pertukaran senyawa antara fungi dan tanaman (Smith dan Smith, 2011).

Peningkatan penyerapan unsur hara tanaman yang difasilitasi oleh fungi mikoriza akan meningkatkan respons tanaman dalam bentuk pertumbuhan vegetatif dan peningkatan pertumbuhan fase generatif yang pada akhirnya meningkatkan produksi tanaman. Buysens *et al.*, (2016) menunjukkan fungi Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) dan *Trichoderma* spp. dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dan meningkatkan ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik pada banyak tanaman pertanian. Inokulasi fungi mikoriza meningkatkan panen kentang yaitu jumlah umbi lebih banyak dan ukuran umbi kentang lebih besar,

Produksi pertanian sering dibatasi oleh fosfor rendah (P) ketersediaan. Di negara-negara berkembang, yang memiliki akses ke pupuk P terbatas, ada kebutuhan untuk mengembangkan tanaman yang lebih efisien di tanah rendah P. Dalam sistem pertanian intensif, penggunaan tanaman yang efisien dalam penyerapan P diperlukan untuk meminimalkan penggunaan P sekaligus mengurangi potensi hilangnya P ke lingkungan. Ada tiga strategi di mana tanaman dan mikroorganisme dapat meningkatkan efisiensi penggunaan P, yaitu: (i) strategi peningkatan pengambilan P dengan menurunkan level kebutuhan P kritis bagi pertumbuhan tanaman sehingga memungkinkan usaha pertanian

dapat berjalan pada level P yang rendah di lapang; (ii) strategi “penambangan” P dengan meningkatkan desorpsi, solubilisasi atau mineralisasi P dari sumber yang tersedia dalam tanah dengan menggunakan eksudat akar (anion organik, fosfatase), dan (iii) meningkatkan efisiensi pemanfaatan P internal melalui penggunaan tanaman yang menghasilkan lebih banyak hasil/biomassa per unit serapan P (Richardson *et al.*, 2011).



## BAB 5

### METODE RISET DAN APLIKASI FUNGI BIOFERTILIZER

#### A. Metode Penentuan Aktivitas Fungi Tanah

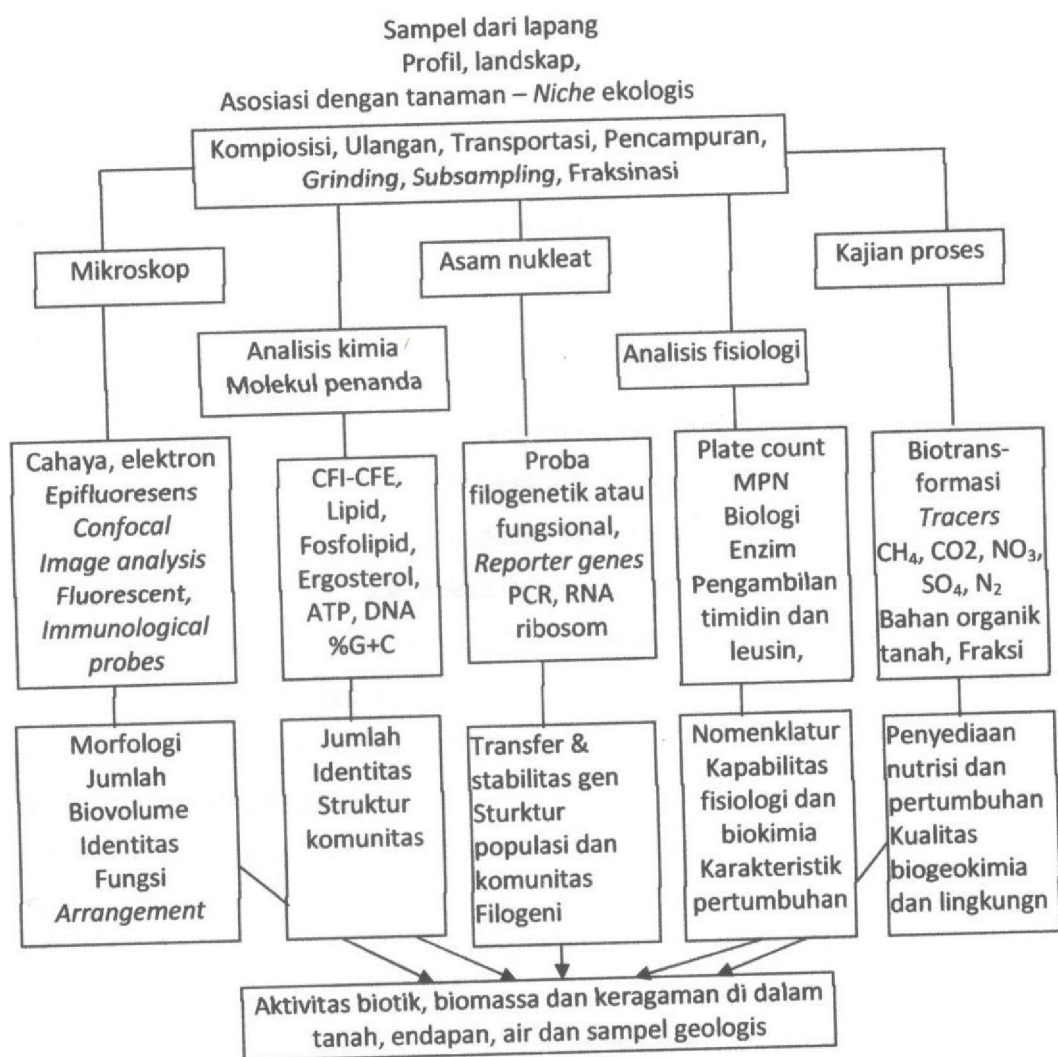
Di dalam pengembangan bioteknologi berbasis aplikasi fungi tanah senantiasa didahului oleh serangkaian kegiatan yang bersifat mendeteksi dan menentukan keberadaan fungi tanah, keragaman dan aktivitas biomasnya. Sangat penting untuk memenuhi data atau catatan informasi lingkungan fisik tanah dan lahan di mana sampel yang akan diamati itu diambil. Beberapa informasi yang harus dikumpulkan minimal terdiri atas: topografi, bahan induk, tekstur dan struktur tanah, kelembaban dan suhu tanah, *bulk density*, curah hujan, tipe dan riwayat vegetasi, dan bahan organik tanah

Mikroba tanah yang sering menjadi obyek kajian adalah berbagai jenis bakteri dan fungi. Secara prinsip langkah awal untuk mengetahui dan mempelajari karakter jenis-jenis mikroba tanah adalah melakukan kegiatan isolasi dengan menggunakan metode penceraan sampel tanah dalam air murni steril sehingga diperoleh  $10^{-2}$  hingga  $10^{-7}$  atau lebih encer (tergantung jenis mikroba) konsentrasi tanah yang mengandung mikroba itu dalam suspensi. Inokulasi mikroba dilakukan dengan cara menyemprotkan suspensi tanah sampel ke permukaan media tumbuh mikroba yang sesuai. *Potato dextrose agar* (PDA) biasanya digunakan sebagai media umum; ditambahkan kloramfenicol apabila ingin mendapatkan fungi dan menghindari kontaminasi bakteri. Tanpa antibiotik berarti diharapkan munculnya bakteri, karena pada umumnya bakteri tumbuh lebih cepat dari fungi. Namun demikian fungi kosmopolitan seperti beberapa jenis *Trichoderma* dan *Aspergillus* mampu tumbuh bersaing dengan bakteri. Semua kegiatan isolasi itu dilakukan di bawah kondisi steril. Koloni yang muncul dipisahkan satu dengan yang lain sehingga diperoleh isolat yang murni. Metode pengenceran juga dapat diterapkan untuk menentukan populasi mikroba yang hidup. Jumlah koloni suatu jenis mikroba yang muncul pada permukaan media tumbuh menunjukkan jumlah populasi dikalikan dengan satu per faktor pengenceran; jika dengan pengenceran  $10^{-7}$ , maka akan diperoleh jumlah koloni dikali  $1/10^{-7}$  per satuan volume.

Penggunaan mikroskop mutlak diperlukan dalam kajian morfologi mikroskopis dan dalam rangka menentukan identitas mikroba. Pewarnaan yang ditunjukkan kepada jasad

mikroba seringkali perlu dilakukan untuk dapat membedakan bentuk dan karakter satu jenis mikroba dengan yang lainnya.

Proses panjang kegiatan riset mulai dari pengumpulan data lingkungan dan pengambilan sampel tanah memerlukan berbagai langkah dan teknik tergantung tujuan yang ingin dicapai. Paul dan Clarck (1996) menggambarkan tahapan-tahapan metodologis atas proses menyeluruh penentuan aktivitas biomassa dan keragaman mikroba (Gambar 5.1).



Gambar 5.1 Berbagai metode untuk menentukan aktivitas biomassa dan keragaman mikroba

## B. Metode Riset Pengembangan Biofertilizer

### Kultur *Trichoderma*

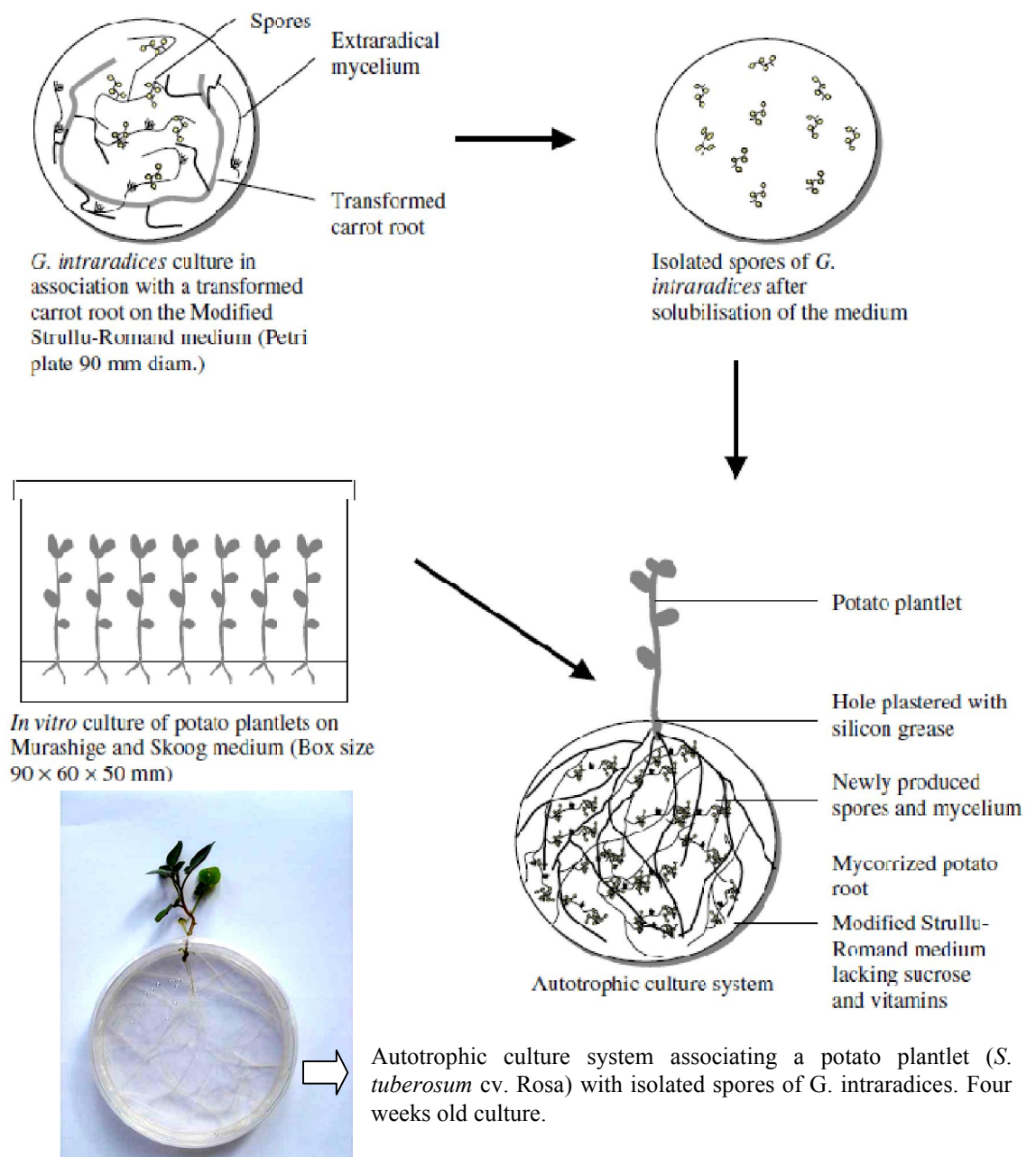
Strain diisolasi dari tanah (pertanian maupun buka lahan pertanian). Pengenceran tanah diikuti oleh penggunaan media PDA yang dimodifikasi yang terdiri atas filtrat dari rebusan kentang (200g), glukosa (20 g), Rose Bengal (0,035 g), agar (20 gr), chloramphenicol (0,3 g), streptomycin sulfat (0,03 gr), dan 50 % ai laut ( 1liter) dengan pH 6. Strain *Trichoderma* dimurnikan dengan melakukan pengkulturan kembali pada media PDAm hingga mencapai kemurniannya dan disimpan dalam gliserol 0% pada suhu -80°C di Pusat Koleksi Kultur *Trichoderma* di Universitas Jiao Tong Shanghai, RRC (Saravanakumar *et al.*, 2016)

Media yang paling efisien untuk isolasi *Trichoderma* spp. dan *Gliocladium* spp. itu potato dextrose agar dimodifikasi dengan penambahan kloramfenikol, streptomisin dan naik bengal (Vargas Gil *et al.*, 2009).

### Kultur Mikoriza

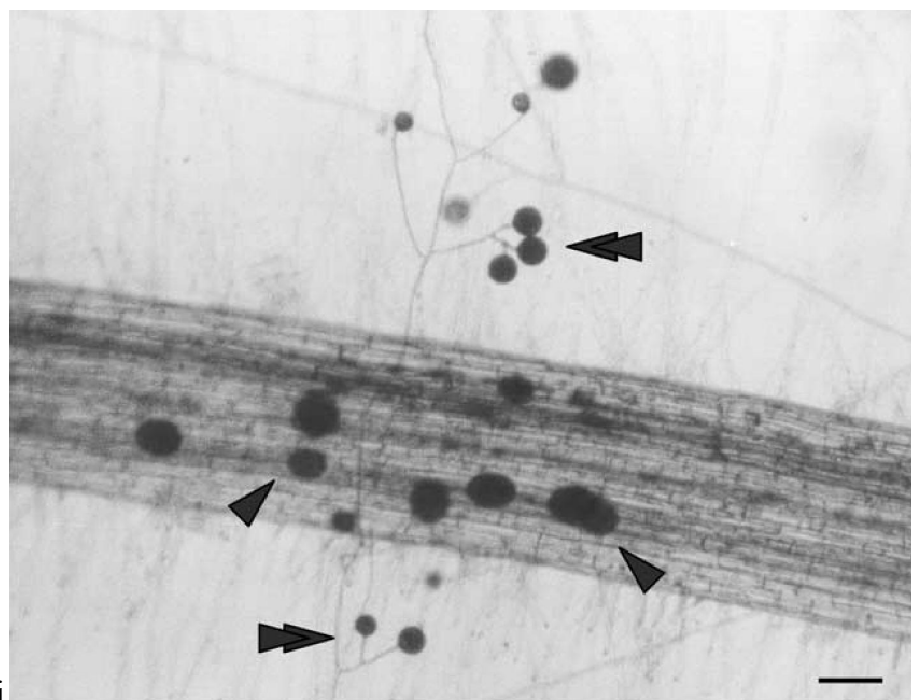
Metode pengambilan spora AMF yang rangkum dari berbagai sumber oleh García-González *et al.* (2016) meliputi langkah-langkah sebagai berikut: (i) akar dan tanah dari masing-masing sampel dipisahkan; akar dicuci dengan air, dipotong berukuran 1-2 cm, dibersihkan dengan 10% KOH, diasamkan dengan diencerkan HCl, dan diwarnai dengan larutan trypan blue dalam lactoglycerol 0,05% untuk memperkirakan kolonisasi mikoriza pada akar yang diukur dengan menggunakan metode *grid-line intersect*; (ii) subsampel sampel (2 g) dicampur dengan air suling selama 30 detik; selanjutnya suspensi dituangkan melalui saringan 250-µm dan kemudian saringan 50-µm untuk memisahkan hifa; bahan dibersihkan lagi dalam air, dipindahkan ke gelas kimia, dikocok selama 60 detik dan didiamkan selama 10 menit. Hifa selanjutnya direndam dalam 20 ml *alikuot* tripan biru selama 12 jam, setelah itu ditiriskan di atas lembaran kertas Whatman; setelah itu hifa diamati di bawah mikroskop sekaligus menentukan/mengukur panjang hifa, dan (iii) Spora fungi mikoriza arbuskula yang diisolasi dari sampel tanah dengan cara penyaringan basah dan *decanting*, kemudian dicampur dengan larutan sukrosa untuk selanjutnya dilakukan sentrifugasi; jumlah spora fungi mikoriza arbuskula per gram tanah dihitung di bawah pengamatan dengan mikroskop.

Teknologi aplikasi mikoriza semakin berkembang sejalan dengan perkembangan cabang ilmu tanaman lainnya yang juga masuk dalam kelompok bioteknologi pertanian. Riset yang menggabungkan teknologi aplikasi mikoriza dan kultur jaringan menuntut pengembangan metode dalam kegiatan percobaannya. Pada percobaan yang dilakukan Voets *et al.* (2015) dapat dicermati metode inokulasi mikoriza pada plantet kentang hasil kultur in vitro (Gambar 5.2).



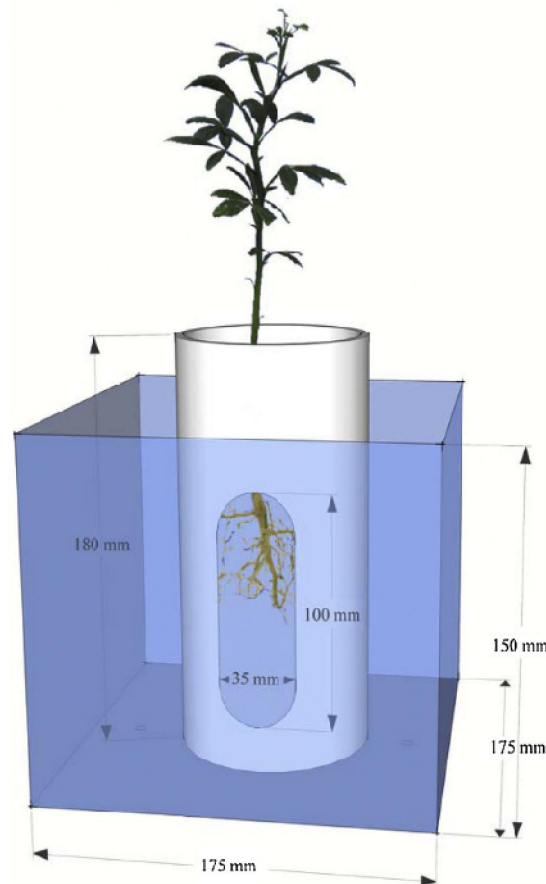
Gambar 5.2. Diagram sistem kultur outotrof bagi inokulasi mikoriza secara in vitro pada plantet kentang (Voets *et al.*, 2005)

Berbagai riset endomikoriza atau mikoriza vasikula-arbuskula selalu menggunakan variabel intensitas infeksi mikoriza sebagai salah satu indikator utama yang menunjukkan efektivitas simbiosis fungi mikoriza dengan akar tanaman. Untuk itu dilakukan pengamatan secara mikroskopis untuk menentukan intensitas infeksi atau persentasi infeksi pada jaringan akar yang ditandai oleh penyebaran hifa di dalam dan permukaan akar. Bagian akar yang terinfeksi akan tampak benang-benang hifa masuk, menyebar, dan menyembul ke luar dari sel epidermis akar. Eksistensi simbiosis mikoriza juga ditunjukkan dengan adanya vesikel dan spora yang muncul dari ujung-ujung hifa eksternal (Gambar 5.3), serta arbuskula yang merupakan struktur yang dimiliki fungi mikoriza di dalam jaringan akar yang berfungsi sebagai sarana untuk pertukaran substansi dan nutrisi antara fungi dan akar tanaman. Pada beberapa jenis endomikoriza yang lain tidak ditemukan vesikel atau hanya dijumpai arbuskula, misalnya berbagai spesies *Gigaspora*.



Gambar 5.3. Akar kentang (*Solanum tuberosum* cv. Rosa) yang dikolonisasi oleh *G. intraradices* dalam sistem kultur ototrofik. Vesikel (anak panah) secara jelas terlihat di akar. Spora dihasilkan dari hifa eksternal (anak panah ganda), skala garis = 150 $\mu$ m.

Para ahli juga meneliti dan mempelajari sistem simbiosis antara akar tanaman dengan fungi mikoriza; dalam hal ini diamati bagaimana mekanisme mulai dari pengenalan kecambah spora dan/atau hifa mikoriza terhadap perakaran tanaman inang, kolonisasi jaringan akar oleh fungi mikoriza (Gambar 5.4) dengan merancang wadah dan media tanam yang sesuai bagi tujuan pengamatan.



**Gambar 5.4.** Skema diagram *core system* (diameter dalam 90 dan ketebalan 10 mm, tinggi 180 mm) dengan empat jendela (panjang 100 mm, lebar 35 mm) untuk uji tumbuh tanaman jeruk sebagai inang yang dikolonisasi oleh fungi mikoriza *Funneliformis mosseae*. Kasa nilon 37  $\mu\text{m}$  (mesh) menutupi jendela demikian juga bagian dasar tabung. Tabung dipasang di tengah *core* yang diinstal pada bagian tengah kotak yang berukuran 175 mm panjang, 175 mm lebar, dan 150 mm tinggi. Di dalam kotak, empat lubang sirkular (diameter 0.5 mm) dibuat agar terhubung dengan lingkungan. Pada saat perlakuan, *cores* diputar tiap minggu sejauh  $180^\circ$  searah jarum jam mengelilingi porosnya yang diarahkan untuk mencapai jaringan hifa fungi mikoriza.

Jenis tanaman mempengaruhi komunitas dan sifat fungsional mikroba tanah yang berkembang di sekitarnya.. Percobaan rumah kaca dilakukan oleh Legaya *et al.* (2016) untuk menilai pengaruh tiga spesies tanaman (*Dactylis glomerata* (L.), *Bromus erectus* (Hudson) dan *Festuca paniculata* (Schinz dan Tellung)) terhadap kolonisasi fungi

mikoriza, nitrifikasi bakteri potensial, dan aktivitas denitrifikasi melalui kerja fungsional sistem simbiosis sehubungan dengan pengambilan dan *turn over* nitrogen; ketiga tanaman ditumbuhkan pada tanah padang rumput dengan dan tanpa pemupukan N. Hasil penelitian ditunjukkan pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Parameter tanaman, parameter mikroba, dan parameter tanah untuk masing-masing jenis tanaman uji di rumah kaca dengan pemberian dan tanpa N pada umur 90 hari. Nilai-nilai sesuai dengan rata-rata dari tiga potper spesies dan perawatan ( $n = 3$  \_SE,  $p < 0,05$ ); huruf yang sama pada tiap parameter yang sama menunjukkan tidak berbeda secara signifikan berdasarkan uji Tukey (Legaya *et al.*, 2016)

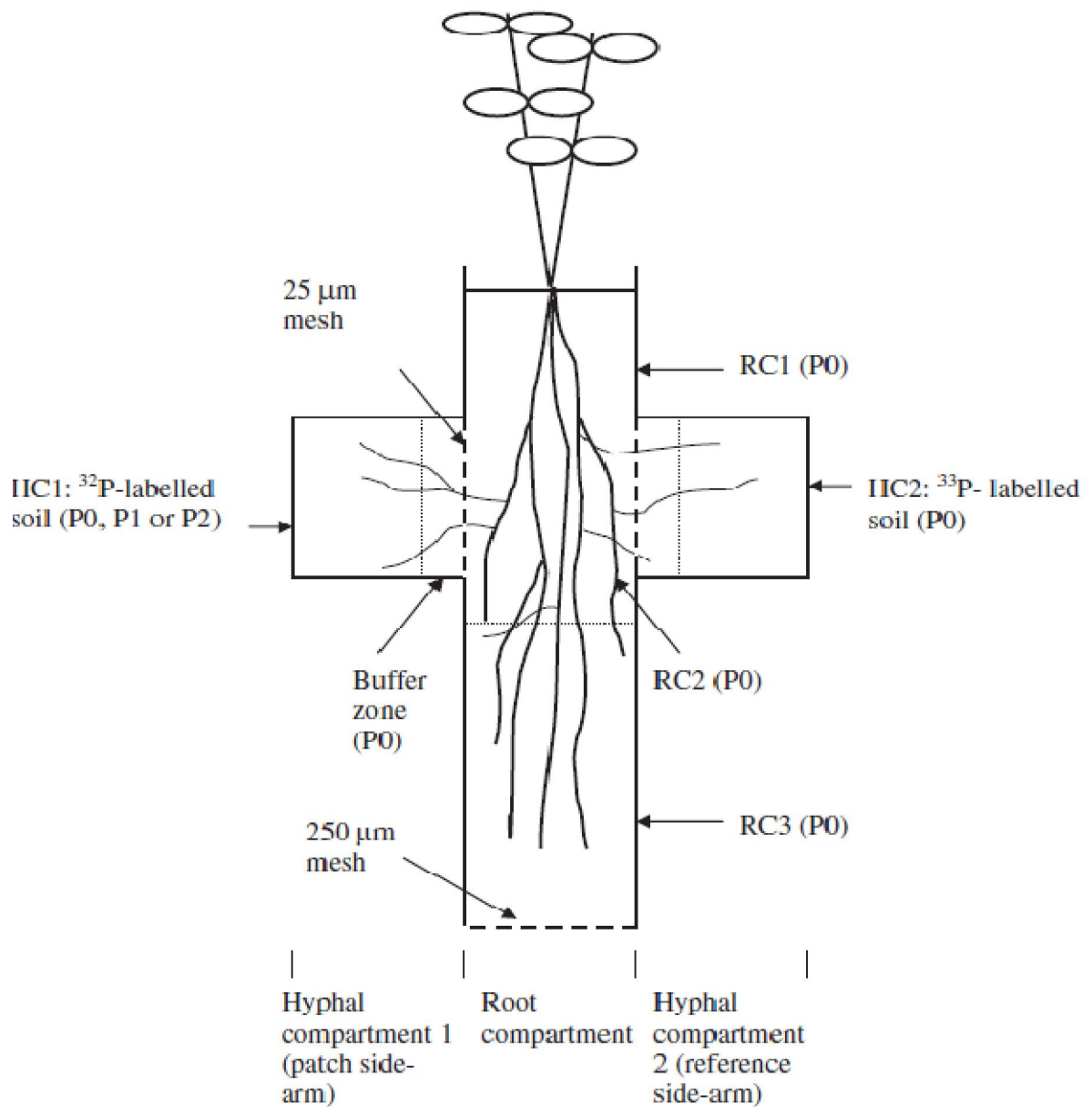
	<i>F. paniculata</i>		<i>B. erectus</i>		<i>D. glomerata</i>	
	N—	N+	N—	N+	N—	N+
a) Plant traits						
Above-ground biomass (g pot <sup>-1</sup> )	2.14 ± 0.29 <sup>A</sup>	2.19 ± 0.23 <sup>A</sup>	1.12 ± 0.1 <sup>B</sup>	0.79 ± 0.09 <sup>B</sup>	2.41 ± 0.14 <sup>A</sup>	2.58 ± 0.26 <sup>A</sup>
Root biomass (g pot <sup>-1</sup> )	0.63 ± 0.13 <sup>C</sup>	0.73 ± 0.07 <sup>BC</sup>	1.09 ± 0.03 <sup>B</sup>	0.70 ± 0.15 <sup>B</sup>	1.78 ± 0.05 <sup>A</sup>	1.93 ± 0.12 <sup>A</sup>
Shoot:root ratio	3.53 ± 0.30 <sup>A</sup>	3.01 ± 0.05 <sup>A</sup>	1.03 ± 0.07 <sup>C</sup>	1.20 ± 0.16 <sup>BC</sup>	1.35 ± 0.05 <sup>B</sup>	1.33 ± 0.08 <sup>B</sup>
Specific leaf area (mm <sup>2</sup> mg <sup>-1</sup> )	8.23 ± 0.05 <sup>C</sup>	9.91 ± 0.5 <sup>C</sup>	11.86 ± 1.56 <sup>B</sup>	13.41 ± 1.16 <sup>B</sup>	17.89 ± 0.78 <sup>A</sup>	16.37 ± 0.24 <sup>A</sup>
Specific root length (mg <sup>-1</sup> )	119.15 ± 12.01 <sup>A</sup>	102.56 ± 2.46 <sup>ABC</sup>	121.82 ± 30.86 <sup>AB</sup>	112.34 ± 26.88 <sup>ABC</sup>	67.25 ± 2.89 <sup>C</sup>	72.14 ± 2.95 <sup>BC</sup>
Leaf N Content (%)	1.69 ± 0.20 <sup>C</sup>	1.99 ± 0.08 <sup>BC</sup>	2.62 ± 0.20 <sup>B</sup>	3.47 ± 0.17 <sup>A</sup>	1.66 ± 0.05 <sup>C</sup>	1.85 ± 0.33 <sup>C</sup>
Leaf C:N	27.28 ± 2.84 <sup>A</sup>	22.62 ± 0.95 <sup>A</sup>	17.92 ± 1.18 <sup>AB</sup>	13.59 ± 0.72 <sup>B</sup>	27.30 ± 0.80 <sup>A</sup>	26.29 ± 5.64 <sup>A</sup>
Leaf dry matter content (mg g <sup>-1</sup> )	354.12 ± 9.94 <sup>A</sup>	340.15 ± 13.76 <sup>ABC</sup>	347.40 ± 11.23 <sup>AB</sup>	314.96 ± 8.75 <sup>CD</sup>	293.85 ± 3.00 <sup>D</sup>	318.77 ± 5.00 <sup>BCD</sup>
Root N content (%)	0.69 ± 0.06 <sup>D</sup>	0.72 ± 0.03 <sup>CD</sup>	1.05 ± 0.22 <sup>B</sup>	1.68 ± 0.05 <sup>A</sup>	0.84 ± 0.05 <sup>BC</sup>	0.89 ± 0.05 <sup>BC</sup>
Root C:N	67.52 ± 6.24 <sup>A</sup>	63.53 ± 2.23 <sup>A</sup>	40.69 ± 4.95 <sup>B</sup>	24.53 ± 1.41 <sup>C</sup>	51.70 ± 2.95 <sup>B</sup>	49.67 ± 3.18 <sup>B</sup>
Root dry matter content (mg g <sup>-1</sup> )	0.21 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.16 ± 0.02 <sup>B</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>B</sup>	0.16 ± 0.00 <sup>B</sup>	0.15 ± 0.01 <sup>B</sup>
b) Microbial parameters						
PDA (μg N—N <sub>2</sub> O g <sup>-1</sup> dwh <sup>-1</sup> )	0.37 ± 0.04 <sup>BC</sup>	0.33 ± 0.02 <sup>CD</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>CD</sup>	0.28 ± 0.01 <sup>D</sup>	0.40 ± 0.02 <sup>AB</sup>	0.45 ± 0.02 <sup>A</sup>
PNA (μg N—(NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) g <sup>-1</sup> dwh <sup>-1</sup> )	0.29 ± 0.08 <sup>AB</sup>	0.60 ± 0.27 <sup>A</sup>	0.13 ± 0.05 <sup>BC</sup>	0.20 ± 0.08 <sup>ABC</sup>	0.09 ± 0.03 <sup>C</sup>	0.12 ± 0.03 <sup>BC</sup>
Mycorrhizal frequency (%)	92.38 ± 5.59 <sup>A</sup>	88.43 ± 6.69 <sup>A</sup>	60.84 ± 5.84 <sup>AB</sup>	57.01 ± 17.32 <sup>B</sup>	73.36 ± 12.31 <sup>AB</sup>	73.20 ± 2.24 <sup>AB</sup>
Mycorrhizal intensity (%)	40.85 ± 7.99 <sup>A</sup>	32.69 ± 13.17 <sup>AB</sup>	9.68 ± 1.58 <sup>B</sup>	12.53 ± 8.14 <sup>B</sup>	13.52 ± 7.67 <sup>B</sup>	14.70 ± 4.23 <sup>B</sup>
c) Soil properties						
Nitrate concentration (μg N—NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> g <sup>-1</sup> dw)	39.49 ± 5.93 <sup>AB</sup>	41.28 ± 6.93 <sup>AB</sup>	19.30 ± 3.41 <sup>B</sup>	68.64 ± 17.08 <sup>A</sup>	0.08 ± 0.05 <sup>C</sup>	3.74 ± 3.24 <sup>C</sup>
Ammonium concentration (μg N—NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> g <sup>-1</sup> dw)	25.86 ± 2.39 <sup>B</sup>	35.65 ± 7.30 <sup>AB</sup>	26.65 ± 0.97 <sup>AB</sup>	39.98 ± 6.92 <sup>A</sup>	25.48 ± 1.19 <sup>B</sup>	25.89 ± 2.56 <sup>B</sup>
Soil water content (%)	26.21 ± 3.79 <sup>BC</sup>	33.13 ± 0.88 <sup>AB</sup>	29.26 ± 5.74 <sup>ABC</sup>	32.57 ± 1.04 <sup>ABC</sup>	36.49 ± 3.92 <sup>A</sup>	23.58 ± 2.48 <sup>C</sup>
Total dissolved N (μg N g <sup>-1</sup> dw)	76.07 ± 7.09 <sup>BC</sup>	88.85 ± 13.53 <sup>AB</sup>	71.39 ± 9.70 <sup>BC</sup>	112.90 ± 19.45 <sup>A</sup>	46.11 ± 2.11 <sup>C</sup>	48.27 ± 5.97 <sup>C</sup>

## Kontainer dan medium pertumbuhan

Percobaan dilakukan pada 'cross-pot' yang dibuat dari pipa PVC diameter 55 mm, dengan dua “sisi-lengan” (Gambar 5.5); “sisi-lengan” dipisahkan dari kompartemen akar (RC) dengan tabir saringan 25 μm, yang memungkinkan dilewati hifa mikoriza namun mencegah lewatnya akar, sehingga memberikan dua kompartemen hifa (HC1 dan HC2) yang tanahnya masing-masing mengandung P berlabel <sup>32</sup>P dan <sup>33</sup>P tanah. Media tumbuh tanaman yang digunakan adalah campuran pasir dan tanah iradiasi (15 kGy, berkas 10 MeV elektron) dengan perbandingan 1: 1, dengan penambahan nutrisi dasar (minus P) dan tanah mengandung P bikarbonat 9 mg P g<sup>-1</sup> dengan pH (H<sub>2</sub>O) 6,7. RC dipenuhi tanah sehingga terdapat tiga zona yang tidak secara fisik dipisahkan yakni: RC1 dan RC3 yang masing-masing berisi 195 g dan 375 g tanah; RC2, terletak langsung antara HC1 dan HC2 yang mengandung 75 g inokulum + 75 g tanah atau 150 g tanah saja untuk perlakuan



kontrol tanpa mikoriza. “Sisi-lengan” pada bagian zone penyangga (P0) masing-masing diisi dengan 20 g tanah, sedangkan sisanya masing-masing HC diisi dengan 80 g tanah dengan pemberian P berlabel yang berbeda. Tanah di HC1 menerima  $\text{KH}_2\text{PO}$  dengan tiga macam konsentrasi yaitu P0: 9 (tidak menambahkan P), 29  $\text{mg g}^{-1}$ , dan 68  $\text{mg g}^{-1}$  tanah. (lihat Gambar 5.5)



Gambar 5.5. Skema diagram pot silang dengan dua bahu samping; RC1+2+3 = kompartemen akar; HC1 dan HC2 = kompartemen hifa; perlakuan tanah P0 (9  $\text{mg kg}^{-1}$ ), P1 (29  $\text{mg kg}^{-1}$ ), P2 (68  $\text{mg kg}^{-1}$ ) (Cavagnaro *et al.*, 2005).



Pemanfaatan mikoriza banyak dilakukan dengan tujuan meningkatkan ketahanan komunitas tumbuhan terhadap tekanan lingkungan, termasuk kekurangan gizi, kekeringan, dan gangguan tanah lainnya. Diharapkan aktivitas dan keragaman fungi mikoriza mempengaruhi tanaman komposisi, struktur, dan dinamika biota tanah. Berbagai penelitian yang mengkaji terkait hal itu adalah seperti yang dilakukan Barea *et al.* (2011) yakni berfokus pada: (i) menganalisis keragaman jamur mikoriza; (ii) menilai interaksi ekologis dan fungsional antara komunitas tanaman dan populasi mikoriza jamur yang terkait; dan (iii) menggunakan teknologi inokulasi mikoriza untuk pemulihan daerah semi-kering terdegradasi.

### C. Formulasi Biofertilizer

Pada berbagai pengembangan teknik aplikasi biofertilizer dan berbagai percobaan aplikasinya, *Trichoderma* diformulasi bersamaan dengan produk lainnya atau aplikasinya bersama-sama meski merupakan produk yang terpisah; selanjutnya efek aplikasi agent biofertilizer ini diamati yaitu meliputi penampilan, pertumbuhan, dan produksi tanaman. Integrasi *T. harzianum* (106 spora/ml/10 g biji) dan carboxin (2 g biji kg<sup>-1</sup>) untuk perlakuan benih mampu meningkatkan perkecambahan biji sampai 12,0-14,0% dan meningkatkan gabah hasil panen dengan 42,6-72,9% sekaligus mengurangi kejadian layu (44,1-60,3%) selama eksperimentasi (Dubey *et al.*, 2007).

Inokulasi bersama dengan mikroba lain telah diteliti dan dikembangkan oleh banyak pihak. *Trichoderma viride* yang disandingkan dengan *Pseudomonas fluorescens* mampu meningkatkan persentase perkecambahan benih, pemanjangan akar, panjang tunas, bobot segar, bobot kering, dan indeks vigor tanaman kapas dengan dan tanpa patogen *Rhizoctonia solani* dan *Macrophomina phaseolina* jika dibandingkan dengan kontrol (Shanmugaiah *et al.*, 2009).

Inokulasi mikrob satu genus berbeda spesies juga banyak dicobakan untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Campuran jamur mikoriza arbuskula yang terdiri *Glomus mosseae*, *G. intraradices*, *G. clarum*, *Gigaspora gigantea*, dan *G. margarita* dalam bentuk suspensi spora (106 Unit l<sup>-1</sup> konsentrasi) digunakan pada pengenceran dari 5 ml l<sup>-1</sup> air, mampu meningkatkan kandungan senyawa fenolik dan aktivitas enzim pertahanan seperti fenilalanin ammonialyase, polifenol oksidase dan enzim peroksidase (Al Askar dan Rashad, 2010).

Formulasi agent biofertilizer ini sudah banyak dilakukan oleh para peneliti; salah satunya adalah yang dikembangkan oleh Hu *et al.* (2015) yaitu isolat *Trichoderma* Tri-1 yang diformulasi dalam 50% bungkil biji kanola (Wuhan Zhongyou Kangni Technology Co., Ltd., Wuhan), 20% jerami padi, and 30% water (w/w/v).

Pengujian kemampuan *Trichoderma* sebagai agen biofertilizer biasanya berdekatan dengan pengamatan perannya sebagai agen biokontrol. Kedua fungsi *Trichoderma* pada tanaman dapat menjelaskan hubungan timbal balik di antara efek penekanan terhadap patogen dan efek yang mendorong pertumbuhan tanaman dan munculnya ketahanan tanaman terhadap serangan patogen. Kekurangan nutrisi dan pertumbuhan tanaman yang buruk sudah tentu akan menurunkan ketahanan tanaman terhadap serangan patogen. Pada penelitian yang dilakukan Sutarman (2016) ditunjukkan bahwa pertumbuhan yang baik selalu ditunjukkan oleh rerata indeks penyakit yang lebih kecil. Dengan memodifikasi cara menentukan perlakuan terbaik yang biasa dilakukan oleh De Garmo *et al.* (1984) dalam hal ini total kuantifikasi dari pengujian daya hambat *Trichoderma* terhadap patogen hawar daun bibit pinus serta penginduksian ketahanan tanaman sebagai fungsi *Trichoderma* sebagai agent biofertilizer yang berperan menyehatkan tanaman, maka diperoleh urutan isolat berdasarkan nilai kinerjanya (Tabel 5.2). Metode *de Garmo* itu sendiri biasa digunakan dalam analisis statistika bidang ekonomi teknik. Namun demikian metode ini dapat diterapkan untuk menentukan perlakuan terbaik di mana peneliti berkewenangan menentukan bobot parameter dengan didasarkan dengan nilai ekonomi dampak kinerja mikroba baik yang menguntungkan maupun merugikan. Adapun penjelasan teknis dari penentuan seperti tertera pada Tabel 5.2 ditunjukkan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

Tabel 5.2 Penentuan urutan nilai kinerja isolat *Trichoderma*

		Daya Hambat In Vitro (%)		Daya Hambat In Vivo (1)–P		Penginduksian Ketahanan (1)-P		Daya Hambat In Vivo (2)-C		Daya Hambat In Vivo (3)-C		Penginduksian Ketahanan (2)-C		Total	U r u t a n
		0,7		1,0		1,0		1,0		1,0		1,0			
		0,1228		0,1754		0,1754		0,1754		0,1754		0,1754			
N.	Isolat	NP	NH	NP	NH	NP	NH	NP	NH	NP	NH	NP	NH		
1	Pronojiwo	0,81	0,123	0,32	0,141	3,65	0,140	0,31	0,114	1,45	0,175	1,17	0,190	0,884	6
2	Jatijejer 1	0,78	0,118	0,29	0,147	4,69	0,105	0,15	0,153	1,81	0,169	0,00	0,205	0,898	5
3	Jatijejer 2	0,71	0,108	0,44	0,116	3,13	0,158	0,15	0,153	2,18	0,162	0,00	0,205	0,903	4
4	Sukowono	0,53	0,080	0,42	0,121	7,29	0,018	0,15	0,153	2,36	0,159	0,00	0,205	0,736	28
5	Grujugan	0,70	0,107	0,31	0,143	4,17	0,123	0,17	0,148	2,46	0,158	1,17	0,190	0,868	10
6	Ponco-kusumo	0,67	0,107	0,37	0,131	3,13	0,158	0,15	0,154	2,87	0,150	0,00	0,205	0,905	2
7	Kemiri	0,73	0,107	0,40	0,125	4,17	0,123	0,13	0,159	2,93	0,149	3,13	0,166	0,828	14
8	Kalibaru	0,71	0,108	0,27	0,150	3,13	0,158	0,06	0,175	3,17	0,145	0,78	0,195	0,931	1
9	Puspo 1	0,54	0,081	0,39	0,126	4,69	0,105	0,09	0,168	3,22	0,144	1,17	0,190	0,815	9
10	Wrining-tapung	0,76	0,115	0,60	0,084	4,17	0,123	0,09	0,167	3,56	0,138	1,17	0,190	0,818	15
11	Sumber-awan	0,74	0,112	0,23	0,158	4,69	0,105	0,14	0,155	3,82	0,134	1,17	0,166	0,830	13
12	Garahan 1	0,52	0,079	0,41	0,122	4,69	0,105	0,18	0,146	3,99	0,131	2,34	0,175	0,758	25
13	Wagir	0,64	0,097	0,31	0,142	5,47	0,079	0,11	0,163	4,01	0,130	0,00	0,205	0,816	16
14	Garahan 2	0,61	0,092	0,41	0,122	4,69	0,105	0,15	0,152	4,14	0,128	1,56	0,185	0,784	23
15	Ngantang	0,74	0,112	0,34	0,136	4,17	0,123	0,23	0,135	4,29	0,125	2,34	0,175	0,807	20
16	Jatirejo	0,68	0,103	0,25	0,155	2,60	0,175	0,29	0,119	4,72	0,118	0,00	0,205	0,876	7
17	Prigen 2	0,67	0,102	0,55	0,093	6,25	0,053	0,20	0,140	4,86	0,115	1,56	0,185	0,689	29
18	Bambang Utara	0,61	0,093	0,32	0,141	4,69	0,105	0,18	0,147	5,21	0,109	0,78	0,195	0,790	22
19	Celaket	0,77	0,117	0,15	0,175	3,65	0,140	0,14	0,155	5,22	0,109	0,00	0,205	0,903	3
20	Jatijejer 3	0,73	0,111	0,28	0,148	4,69	0,105	0,20	0,140	5,49	0,104	0,00	0,205	0,813	18
21	Pujon	0,78	0,118	0,26	0,152	3,65	0,140	0,27	0,124	5,81	0,099	0,00	0,205	0,838	12
22	Prigen 1	0,69	0,104	0,41	0,123	3,65	0,140	0,17	0,153	5,81	0,169	1,95	0,180	0,870	9
23	Nongko-jajar	0,60	0,092	0,34	0,136	3,65	0,140	0,17	0,148	5,89	0,097	1,56	0,185	0,798	21
24	Kemloko 2	0,74	0,112	0,40	0,125	5,21	0,088	0,15	0,153	5,91	0,097	1,17	0,190	0,765	24
25	Candipuro	0,72	0,110	0,30	0,144	3,13	0,123	0,12	0,148	6,20	0,092	0,78	0,195	0,811	19
26	Sajen	0,53	0,081	0,41	0,122	6,77	0,035	0,17	0,149	6,24	0,091	1,17	0,190	0,668	30
27	Jelbuk	0,59	0,090	0,52	0,101	5,73	0,263	0,16	0,151	6,25	0,091	1,95	0,180	0,875	8
28	Puspo 2	0,72	0,109	0,36	0,133	5,21	0,088	0,19	0,144	6,62	0,084	1,56	0,185	0,743	27
29	Jabung	0,65	0,098	0,43	0,119	3,13	0,158	0,28	0,123	6,69	0,083	2,34	0,175	0,756	26
30	Kemloko 1	0,75	0,114	0,19	0,167	2,60	0,175	0,23	0,134	7,01	0,077	1,56	0,185	0,853	11
31	Kontrol	0,00	0,000	1,02	0,000	7,81	0,000	0,79	0,000	11,39	0,000	16,26	0,000	0,000	31

Keterangan: <sup>1</sup>Bobot normal = bobot parameter/bobot total; <sup>2</sup> Nilai hasil perlakuan = bobot normal x nilai efektif perlakuan  
 Nilai efektif perlakuan tiap variabel= (nilai perlakuan-nilai terjelek)/(nilai tertinggi-nilai terjelek); (1)-P bibit uji umur 1 bulan saat inokulasi di Pujon; (2)-C = bibit uji umur 2 bulan saat inokulasi di Pujon; (3)-C = bibit uji umur 3 bulan saat inokulasi di Pujon (Sutarman, 2016)

Penjelasan teknis penentuan nilai penting kinerja isolat seperti tertera pada Tabel 5.2 ditunjukkan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- (i) Menentukan bobot parameter, angkanya tergantung pada penilaian peneliti terhadap suatu bobot parameter dengan nilai tertinggi 1. Pada Tabel 6.5 parameter daya hambat patogen secara *in vitro* bobot parameternya 0,7, sementara itu daya hambat patogen secara *in vivo* dan daya menginduksi ketahanan tanaman masing-masing. Bisa jadi peneliti lain daya penginduksian ketahanan tanaman bebobot maksimal atau 1 sedangkan daya hambat *in vivo* diberi bobot 0,8 atau di bawah 1 dengan pertimbangan bahwa penginduksian ketahanan tanaman berkaitan dengan hasil proses kompleks yang melibatkan peran ketersediaan nutrisi dan senyawa ekstraselular yang memicu pertumbuhan tanaman yang difasilitasi dan/atau dihasilkan dari proses kerja *Trichoderma*;
- (ii) Menentukan bobot total yaitu menjumlahkan semua bobot parameter masing-masing variabel pengamatan; dalam kasus ini adalah 5,7;
- (iii) Menentukan bobot normal dari masing-masing variabel pengamatan dengan membagi tiap bobot parameter dengan bobot total, rumusnya:

$$\text{Bobot normal} = \text{bobot parameter} / \text{bobot total}$$

- (iv) Menentukan nilai efektif tiap variabel yaitu dengan membagi selisih nilai perlakuan dan nilai terjelek dengan selisih nilai tertinggi dan nilai terjelek, rumusnya:

$$\text{Nilai efektif perlakuan tiap variabel (NP)} =$$

$$(\text{nilai perlakuan} - \text{nilai terjelek}) / (\text{nilai tertinggi} - \text{nilai terjelek})$$

Persamaan itu berlaku bila nilai terjelek adalah nilai pada variabel pengamatan yang terendah, akan tetapi jika nilai terjelek adalah diwujudkan dalam bilangan angka dengan nilai tertinggi, maka persamaannya menjadi

$$\text{Nilai efektif perlakuan tiap variabel (NP)} =$$

$$(\text{nilai perlakuan} - \text{nilai tertinggi}) / (\text{nilai terendah} - \text{nilai tertinggi})$$

- (v) Menghitung nilai hasil perlakuan (NH) untuk tiap variabel dengan cara mengkalikan Nilai efektif perlakuan tiap variabel (NP) dengan bobot normal, dengan rumus:

Nilai Hasil Perlakuan (NH) = NP x bobot normal tiap variabel.

Selanjutnya menjumlahkan nilai hasil perlakuan dari seluruh variabel pengamatan. Pada Tabel 6.5 dicontohkan misalnya Perlakuan (isolat) *Trichoderma* Kalibaru dengan total nilai hasil perlakuan 0,931 diikuti oleh isolat Poncokusumo dan isolat Celaket masing-masing 0,905 dan 0,903 di urutan 2 dan 3, sedangkan isolat Progen 2 dan isolat Sajen mendapat nilai 0,689 dan 0,668 berada diurutan 9 dan 30. Makin tinggi urutan berarti efek kinerja suatu isolat makin baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Hadi S, Sa'id EG, Satiawihardja B, Kardin MK & Harran S. 1999. The potential use of two species of *Trichoderma* for the biological control of damping-off on *Pinus merkusii*. In: De la Cruz RE, Follosco M & Ishii K (eds.). *Proceedings of Manila Workshop*. pp. 103-107. Philippines BIIO-REFOR/IUFRO/SPDC. Manila.
- AlAskar AA & Rashad YM. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi: a biocontrol agent against common bean *Fusarium* root rot disease. *Plant Pathol. J.* 9, 31–38.
- Alguacil MM, Torrecillas E, García-Orenes F & Roldán A. 2014. Changes in the composition and diversity of AMF communities mediated by management practices in a Mediterranean soil are related with increases in soil biological activity. *Soil Biol. Biochem.* 76, 34–44.
- Al-Taweil HI, Osman MB, Aidil AH & Wan-Yussof WM. 2009. Optimizing of *Trichoderma viride* cultivation in submerged state fermentation. *Am. J. Appl. Sci.* 6, 1277–1281.
- Bai C, He X, Tang H, Shan B & Zhao L. 2009. Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi, glomalin and soil enzymes under the canopy of *Astragalus adsurgens* Pall. in the Mu Us sandland, China. *Soil Biol. Biochem.* 41, 941–947.
- Barea JM, Palenzuela J, Cornejo P, Sánchez-Castro I, Navarro-Fernández C, López-García A, Estrada B, Azcón R, Ferrol N & Azcón-Aguilar C. 2011. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. *J. Arid Environ.* 75, 1292–1301.
- Bedini S, Avio L, Argese E & Giovannetti M. 2007. Effects of long-term land use on arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin-related soil protein. *Agric. Ecosyst. Environ.* 120, 463–466.
- Benítez T, Rincón AM, Limón MC & Codon A. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int. Microbiol.* 7 (4), 249–260.
- Buysens C, César V, Ferrais F, De Boulois HD & Declerck S. 2016. Inoculation of *Medicago sativa* cover crop with *Rhizophagus irregularis* and *Trichoderma harzianum* increases the yield of subsequently-grown potato under low nutrient conditions. *Applied Soil Ecology* 105, 137–143.
- Camenzind T, Homeier J, Dietrich K, Hempel S, Hertel D, Krohn A, Leuschner C, Oelmann Y, Olsson PA, Suarez JP & Rillig MC. 2016. Opposing effects of nitrogen versus phosphorus additions on mycorrhizal fungal abundance along an elevational gradient in tropical montane forests. *Soil Biology & Biochemistry* 94, 37–47.
- Cavagnaro TR, Smith FA, Smith SE & Jakobsen I. 2005. Functional diversity in arbuscular mycorrhizas: exploitation of soil patches with different phosphate enrichment differs

- among fungal species. *Plant Cell Environ.* 28, 642–650. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01310.x>.
- Cavallazzi JRP, Filho OK, Stürmer SL, Rygielwicz PT & de Mendonça MM. 2007. Screening and selecting arbuscular mycorrhizal fungi for inoculating micropropagated apple rootstocks in acid soils. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 90, 117–129. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-006-9163-6>.
- Cheng W, Johnson DW & Fu S. 2003. Rhizosphere effects on decomposition. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 1418–1427. doi: <http://dx.doi.org/10.2136/sssaj2003.1418>.
- Chowdappa P, Kumar SPM, Lakshmi MJ & Upreti KK. 2013. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. *Biol. Control* 65, 109–117.
- Clarkson JP, Mead A, Payne T & Whipps JM. 2004. Effect of environmental factors and *Sclerotium cepivorum* isolate on sclerotial degradation and biological control of white rot by *Trichoderma*. *Plant Pathol.* 53, 353–362.
- Dayana Amira R, Roshanida AR, Rosli MI, Zahrah SFMF, Anuar MJ & Adha NCM. 2012. Bioconversion of empty fruit bunch (EFB) and palm oil mill effluent (POME) into compost using *Trichoderma virens*. *African Journal of Biotechnology* 10, 18775–18780.
- Dix NJ & Webster J. 1995. *Fungal ecology*. Chapman & Hall. London.
- Driver JD, Holben WE & Rillig MC. 2005. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.* 37, 101–106.
- Dubey SC, Suresha M & Singha B. 2007. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris for integrated management of chickpea wilt. *Biol. Control* 40, 118–127.
- Gams W & Bissett J. 2002. Morphology and identification of *Trichoderma*. In: Kubicek CP & Harman GE (Eds.). *Trichoderma and Gliocladium, Volume 1: Basic biology, taxonomy and genetics*. pp. 3–34. Taylor & Francis Ltd. London.
- García-González I, Quemada M, Gabriel JL & Hontoria C. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungal activity responses to winter cover crops in a sunflower and maize cropping system. *Applied Soil Ecology* 102, 10–18.
- Geisseler D & Horwath WR. 2009. Relationship between carbon and nitrogen availability and extracellular enzyme activities in soil. *Pedobiologia* 53, 87–98.
- Gerbore J, Benhamou N, Vallance J, Le Floch G, Grizard D, Regnault-Roger, C & Rey P. 2014. Biological control of plant pathogens: advantages and limitations seen through the case study of *Pythium oligandrum*. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 21, 4847–4860.
- Gianinazzi S, Gollotte A, Binet MN, van Tuinen D, Redecker D & Wipf D. 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza* 20, 519–530.

- Glare T, Caradus J, Gelernter W, Jackson T, Keyhani N, Kohl J, Marrone P, Morin L & Stewart A. 2012. Have biopesticides come of age? *Trends Biotechnol.* 30, 250-258.
- Gravel V, Antoun H & Tweddell RJ. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biol. Biochem.* 39, 1968–1977.
- Guan CY. 2011. The development direction of the oilseed rape industry in China. *Grain Sci. Technol. Econ.* 36, 5-6.
- Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I & Lorito M. 2004. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 2, 43–56.
- Harman GE. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96, 190–194.
- Heinemeyer A, Hartley IP, Evans SP, Carreira De La Fuente JA & Ineson P. 2007. Forest soil CO<sub>2</sub> flux: uncovering the contribution and environmental responses of ectomycorrhizas. *Glob. Change Biol.* 13, 1786–1797. doi:<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01383.x>.
- Howell CR. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87, 4–10.
- Hu X, Roberts DP, Xie L, Maul JE, Yu C, Li Y, Zhang Y, Qin L & Liao X. 2015. Components of a rice-oilseed rape production system augmented with *Trichoderma* sp. Tri-1 control *Sclerotinia sclerotiorum* on oilseed rape. *Phytopathology* 105, 1325-1333.
- Hu X, Roberts DP, Xie L, Yu C, Li Y, Qin L, Hu L, Zhang Y & Liao X. 2016. Use of formulated *Trichoderma* sp. Tri-1 in combination with reduced rates of chemical pesticide for control of *Sclerotinia sclerotiorum* on oilseed rape. *Crop Protection* 79, 124-127.
- Jindapunnapat K, Chinnasri B & Kwankuae S. 2013. Biological control of Root-knot nematodes (*Meloidogyne enterolobii*) in guava by the fungus *Trichoderma harzianum*. *J. Dev. Sustainable Agric.* 8, 110–118.
- Kuzyakov Y & Larionova AA. 2005. Root and rhizomicrobial respiration: a review of approaches to estimate respiration by autotrophic and heterotrophic organisms in soil. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168, 503–520. doi:<http://dx.doi.org/10.1002/jpln.200421703>.
- Legaya N, Grassein F, Binet MN, Arnoldi C, Personeni E, Perigon S, Polyd F, Pommier T, Puissant J, Clément JC, Lavorel S & Mouhamadou B. 2016. Plant species identities and fertilization influence on arbuscular mycorrhizal fungal colonisation and soil bacterial activities. *Applied Soil Ecology* 98, 132–139.
- Lievens, B., Brouwer, M., Vanachter, A.C.R.C., Cammue, B.P.A., Thomma, B.P.H.J., 2006. Real-time PCR for detection and quantification of fungal and oomycete tomato pathogens in plant and soil samples. *Plants Sci.* 171, 155–165.



- Ma HX, Feng XJ, Chen Y, Chen CJ & Zhou M. 2009. Occurrence and characterization of dimethachlon insensitivity in *Sclerotinia sclerotiorum* in Jinagsu Province of China. *Plant Dis.* 93, 36-42.
- Martinson GO, Corre MD & Veldkamp E. 2013. Responses of nitrous oxide fluxes and soil nitrogen cycling to nutrient additions in montane forests along an elevation gradient in southern Ecuador. *Biogeochemistry* 112, 625-636.
- Min Z, Liu J, Zhao J, Li N, Chen R, Xie K, Zhang W, Feng K, Yan Z, Wang N & Dai J. 2016. Two new diterpenoids from the endophytic fungus *Trichoderma* sp. Xy24 isolated from mangrove plant *Xylocarpus granatum*. *Chinese Chemical Letters* 27, 957-960.
- Moyano F, Kutsch W & Schulze E. 2007. Response of mycorrhizal, rhizosphere and soil basal respiration to temperature and photosynthesis in a barley field. *Soil Biol. Biochem.* 39, 843-853. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.10.001.
- Neumann J & Matzner E. 2014. Contribution of newly grown extramatricalectomycorrhizal mycelium and fine roots to soil respiration in a young Norway spruce site. *Plant Soil* 378, 73-82. doi:http://dx.doi.org/10.1007/s11104-013-2018-0.
- Nottingham AT, Turner BL, Winter K, van der Heijden MGA & Tanner EVJ. 2010. Arbuscular mycorrhizal mycelial respiration in a moist tropical forest. *New Phytol.* 186, 957-967. doi:http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03226.x.
- Nurudin MJ dan Sutarman. 2014. Potensi *Trichoderma* sp sebagai pengendali *Phytophthora palmivora* penyebab hawar daun bibit kakao. *J Nabatia* 11 (1): 21-28.
- Paul EA & Clark FE. 1996. *Soil microbiology and biochemistry* 2nd ed. Academic Press. San Diego.
- Pruksakorna P, Araia M, Kotokua N, Vilchèze C., Baughn AD, Moodley P, Jacobs WR Jr. & Kobayashia M. 2010. Trichoderins, novel aminolipopeptides from a marine sponge-derived *Trichoderma* sp., are active against dormant mycobacteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20 (12): 3658-3663
- Read D & Perez-Moreno J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems - a journey towards relevance? *New Phytologist* 157, 475-492.
- Richardson A, Lynch J, Ryan P, Delhaize E, Smith FA, Smith SE, Harvey P, Ryan M, Venklaas E, Lambers H, Oberson A, Culvenor R & Simpson R. 2011. Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant and Soil* 349, 121-156.
- Rillig MC, Wright SF, Nichols KA, Schmidt WF & Torn MS. 2001. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant Soil* 233, 167-177.
- Sahebani N & Hadavi N. 2008. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2016-2020.

- Samuels GJ. 2006. *Trichoderma*: Systematics, the Sexual State, and Ecology. *Phytopathology* 96 (2): 195-206.
- Saravanakumar K, Yu C, Dou K, Wang M, Li Y & Chen J. 2016. Synergistic effect of *Trichoderma*-derived antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes on enhanced biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Biological Control* 94 (2016) 37–46.
- Shanmugaiah V, Balasubramanian N, Gomathinayagam S, Monoharan PT & Rajendran A. 2009. Effect of single application of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescences* on growth promotion in cotton plants. *Afr. J. Agric. Res.* 4, 1220–1225.
- Six J, Elliott ET & Paustian K. 2000. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biol. Biochem.* 32, 2099–2103.
- Smith SE & Smith FA. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology* 62, 227-250.
- Srivastava R., Khalid A, Singh US & Sharma AK. 2010. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* for the management of tomato wilt. *Biological Control* 55, 24-31.
- Steinberg PD & Rillig MC. 2003. Differential decomposition of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae and glomalin. *Soil Biol. Biochem.* 35, 191–194.
- Suriadikarta DA & Simanungkalit RDM. 2006. Pendahuluan. In: Simanungkalit RDM, Suriadikarta DA, Saraswati R, Setyorini D & Hartatik W (eds.). *Pupuk organik dan pupuk hayati*. Pp. 1-10. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor.
- Talbot JM, Allison SD & Treseder KK. 2008. Decomposers in disguise: mycorrhizal fungi as regulators of soil C dynamics in ecosystems under global change. *Funct. Ecol.* 22, 955–963. doi:<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01402.x>.
- Teste FP, Lalibert E, Lambers H, Auer Y, Kramer S & Kandeler E. 2016. Mycorrhizal fungal biomass and scavenging declines in phosphorus impoverished soils during ecosystem retrogression. *Soil Biology & Biochemistry* 92, 119-132.
- Tilman D, Cassman KG, Matson PA, Naylor R & Polasky S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418, 671–677.
- Tomè E, Tagliavini M & Scandellari F. 2015. Recently fixed carbon allocation in strawberry plants and concurrent inorganic nitrogen uptake through arbuscular mycorrhizal fungi. *J. Plant Physiol.* 179, 83–89. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2015.02.008>.
- Van der Heijden MG, Streitwolf-Engel R, Riedl R, Siegrist S, Neudecker A, Ineichen K, Boller T, Wiemken A & Sanders IR. 2006. The mycorrhizal contribution to plant

- productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland. *New Phytologist* 172, 739-752.
- Van Geel M, Ceustermans A, van Hemelrijck W, Lievens B & Honnay O. 2015. Decrease in diversity and changes in community composition of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of apple trees with increasing orchard management intensity across a regional scale. *Mol. Ecol.* 24, 941–952. doi:<http://dx.doi.org/10.1111/mec.13079>.
- Vargas Gil S, Pastorb S & Marcha GJ. 2009. Quantitative isolation of biocontrol agents *Trichoderma* spp. *Gliocladium* spp. and Actinomycetes from soil with culture media. *Microbiol. Res.* 164, 196–205.
- Verma M, Brar SK, Tyagi RD, Surampalli RY & Valero JR. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control. *Biochemistry Engineering Journal* 37, 1-20.
- Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Barbetti MJ, Li H, Woo SL & Lorito M. 2008. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 72, 80–86.
- Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra RS, Woo L & Lorito M. 2008. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biol. Biochem.* 40, 1–10.
- Voets L, De Boulois HD, Renard L, Strullu DG & Declerck S. 2005. Development of an autotrophic culture system for the in vitro mycorrhization of potato plantlets. *FEMS Microbiol. Lett.* 248, 111–118.
- Wang B & Qiu YL. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16, 299-363.
- Wilson GWT, Rice CW, Rillig MC, Springer A & Hartnett DC. 2009. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. *Ecol. Lett.* 12, 452–461. doi:<http://dx.doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01303.x>.
- Yedidiaa I, Benhamoub N, Kapulnikc Y & Cheta I. 2000. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. *Plant Physiology and Biochemistry* 38 (11): 863–873.
- Youssef SA, Tartoura KA & Abdelraouf GA. 2016. Evaluation of *Trichoderma harzianum* and *Serratia proteamaculans* effect on disease suppression, stimulation of ROS-scavenging enzymes and improving tomato growth infected by *Rhizoctonia solani*. *Biological Control* 100, 79–86.

## BIODATA PENULIS

Dr. Ir. Sutarman, M.P. lahir di Lampung, 5 Januari 1963. Pendidikan S1 di Program Studi Hama dan Penyakit Tanaman Universitas Lampung diselesaikan pada 1984-1988, studi S2 di Program Studi Ilmu Tanaman KPK PPS UGM-UNIBRAW diselesaikan pada 1992-1994, selanjutnya lulus Program Doktor Ilmu Kehutanan Institut Pertanian Bogor (IPB) tahun 2003. Sejak S1 hingga S3 penulis berkecimpung di bidang penyakit tanaman



dan bekerja dengan fungi baik patogen maupun fungi efektif menguntungkan. Sejak menjadi dosen tetap Fakultas Pertanian (FP) Universitas Muhammadiyah Sidoarjo (UMSIDA) pada tahun 2009, penulis lebih banyak menggeluti kajian pemanfaatan fungi efektif bagi upaya peningkatan produktivitas dan kesehatan tanaman serta lahan pertanian. Pada program studi Agroteknologi FP – UMSIDA, penulis diberi kepercayaan untuk mengampu mata kuliah Kesuburan dan Mikrobiologi Tanah, Teknologi Bioremediasi, Pengelolaan Hama-Penyakit Terpadu, dan Kultur Jaringan. Penulis juga dipercaya untuk mengampu matakuliah dasar umum Ilmu Kealaman Dasar pada fakultas non eksak di lingkungan UMSIDA sekaligus menyusun buku Ilmu Kealaman Dasar (2016). Buku *Biofertilizer Fungi: Trichoderma & Mikoriza* merupakan salah satu luaran penelitian yang didanai oleh Dirjen Dikti- Kementrian Ristekdikti tahun 2016.